

SÉRIE N° 1720
N° D'ORDRE: 2586

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

le grade de Docteur ès Sciences Naturelles

PAR

R. JONNARD

PREMIÈRE THÈSE :

RÉFRACTOMÉTRIE INTERFÉRENTIELLE ET STRUCTURE DU SÉRUM SANGUIN

DEUXIÈME THÈSE : Propositions données par la Faculté

Soutenues le 21 JUIN 1937 devant la Commission d'examen

MM. R. LÉVY, *Président.*

J. MILLOT }
DUNOYER } *Examineurs.*

✱

PARIS

LES PRESSES MODERNES

IMPRIMERIE AU PALAIS-ROYAL

96, Galerie Beaujolais, Paris (1^{re})

1937



Digitized by the Internet Archive
in 2026

SÉRIE N° 1720
N° D'ORDRE: 2586

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

le grade de Docteur ès Sciences Naturelles

PAR

R. JONNARD

PREMIÈRE THÈSE :

RÉFRACTOMÉTRIE INTERFÉRENTIELLE ET STRUCTURE DU SÉRUM SANGUIN

DEUXIÈME THÈSE : Propositions données par la Faculté

Soutenues le , *devant la Commission d'examen*

MM. R. LÉVY, *Président.*

J. MILLOT }
DUNOYER } *Examineurs.*

✱

PARIS

LES PRESSES MODERNES
IMPRIMERIE AU PALAIS-ROYAL
96, Galerie Beaujolais, Paris (1^{re})

1 9 3 7

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen honoraire M. MOLLIARD,
Doyen C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du Globe.

Professeurs honoraires	H. LEBESGUE.	GUILLET.	JANET.
	A. FERNBACH.	PÉCHARD.	LESPIEAU.
	A. LEDUC.	FREUNDLER.	MARCHIS.
	Emile PICARD.	AUGER.	VESSIER.
	Rémy PERRIER.	BLAISE.	PORTIER.
	Léon BRILLOUIN.	DANGEARD	

PROFESSEURS

G. BERTRAND.....	T	Chimie biologique.	L. JOLEAUD.....	Paléontologie.
M. CAULLERY.....	T	Zoologie (Evolution des êtres organisés).	ROBERT-LÉVY....	Zoologie.
G. URBAIN.....	T	Chimie générale.	F. PICARD.....	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
Emile BOREL.....	T	Calcul des probabilités et Physique mathématique	Henri VILLAT.....	T Mécanique des fluides et applications.
Jean PERRIN.....	T	Chimie physique.	Ch. JACOB.....	T Géologie.
H. ABRAHAM.....	T	Physique.	P. PASCAL.....	T Chimie minérale.
E. CARTAN.....	T	Géométrie supérieure.	M. FRÉCHET.....	T Calcul différentiel et Calcul intégral.
M. MOLLIARD.....	T	Physiologie végétale.	E. ESCLANGON....	T Astronomie.
L. LAPICQUE.....	T	Physiologie générale.	M ^{me} RAMART-LUCAS	T Chimie organique.
A. COTTON.....	T	Recherches physiques.	H. BÉGHIN.....	T Mécanique physique et expérimentale.
J. DRACH.....	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	FOCH.....	Mécanique expérimentale des fluides.
Charles FABRY...	T	Enseignement de physique	PAUTHENIER.....	Physique (P.C.B.).
Charles PÉREZ....	T	Zoologie.	DE BROGLIE.....	T Théories physiques.
Léon BERTRAND..	T	Géologie structurale et géologie appliquée.	CHRÉTIEN.....	Optique appliquée.
E. RABAUD.....	T	Biologie expérimentale.	P. JOB.....	Chimie générale.
M. GUICHARD....		Chimie minérale.	LABROUSTE.....	Physique du Globe.
Paul MONTEL.....	T	Théorie des fonctions et Théorie des transformations.	PRENANT.....	Zoologie.
P. WINTREBERT..	T	Anatomie et histologie comparées.	VILLEY.....	Mécanique physique et expérimentale.
L. BLARINGHEM...	T	Botanique.	BOHN.....	Zoologie (P.C.B.).
O. DUBOSQ.....	T	Biologie maritime.	COMBES.....	Botanique (P.C.B.).
G. JULIA.....	T	Mécanique analytique et Mécanique céleste.	GARNIER.....	T Mathématiques générales.
C. MAUGUIN.....	T	Minéralogie.	PÈRES.....	Mécanique des fluides.
A. MICHEL-LÉVY..	T	Pétrographie.	HACKSPILL.....	Chimie (P.C.B.).
H. BÉNARD.....	T	Mécanique expérimentale des fluides.	LAUGIER.....	Physiologie générale.
A. DENJOY.....	T	Application de l'analyse à la Géométrie.	TOUSSAINT.....	Technique Aéronautique.
L. LUTAUD.....	T	Géographie physique et géologie dynamique.	M. CURIE.....	Physique (P.C.B.).
Eugène BLOCH....	T	Physique théorique et physique céleste.	G. RIBAUD.....	T Hautes températures.
G. BRUHAT.....		Physique.	CHAZY.....	T Mécanique rationnelle.
E. DARMOIS.....		Enseignement de Physique.	GAULT.....	Chimie (P.C.B.).
A. DEBIERNE.....	T	Physique générale et Radioactivité.	CROZE.....	Recherches physiques.
A. DUFOUR.....	T	Physique (P.C.B.).	DUPONT.....	T Théories chimiques.
L. DUNOYER.....		Optique appliquée.	LANQUINE.....	Géologie.
A. GUILLIERMOND.	T	Botanique.	VALIRON.....	Mathématiques générales.
M. JAVILLIER....		Chimie biologique.	BARRABÉ.....	Géologie structurales et géologie appliquée.
			MILLOT.....	Biologie animale (P.C.B.).
			F. PERRIN.....	Théories physiques.
			VAVON.....	Chimie organique.
			G. DARMOIS....	Calculs des probabilités et physique mathématique.

Secrétaire A. PACAUD.
Secrétaire honoraire D. TOMBECK.



INTRODUCTION

- « Les bornes du possible ont été reculées ;
- « Un mortel a pu voir, armé d'un œil géant
- « Osciller des lueurs aux confins du néant.

J.-J. AMPÈRE.

Ces trois vers s'appliquent admirablement à la découverte de Robert Brown, observant pour la première fois en 1827 un des aspect de l'agitation moléculaire dont l'étude minutieuse à l'ultra-microscope par Jean Perrin, au début de notre siècle, devait asseoir sur les bases les plus solides, la théorie des colloïdes.

Le terme de colloïde est récent, mais la chose est connue depuis longtemps, si l'on en croit Bernard de Palissy : « vray est qu'aucun philosophe alchimiste disent çavoir rendre l'or en eau par quelque dissolution ; véritablement s'ils le peuvent dissoudre, il est potable ». (Receptes véritables — 1564). Il ne faut pas douter qu'il y a là allusion à la préparation de l'or colloïdal, car, à peine plus tard, Ettmuller relate le fait suivant : « Laurambergius a vu une eau insipide dans laquelle l'or se fondoit comme glace dans eau chaude. Un archevêque que je ne nomme point, avoit ches lui un Chymiste a qui j'ay veu dissoudre de l'or en six heures de tems en une liqueur très rouge... ».

Les bases des premiers alchimistes devaient être bonnes, car le progrès n'est pas énorme du « moulin philosophique » de Lancelot, au « moulin colloïdal » de Plauson, utilisé par les homéopathes modernes, pour ne parler que de ce procédé mécanique de préparation des colloïdes.

Mais ces anciens chercheurs ignoraient toute la valeur de ce qu'ils avaient trouvé. En effet, la science des colloïdes est, si l'on peut dire, l'enfant du siècle, car ses plus grands progrès sont de date relativement récente. Il reste cependant beaucoup à apprendre, surtout en ce qui concerne les propriétés des biocolloïdes qui, généralement instables et très complexes, se prêtent mal à l'expérimentation, et se sont montrés peu propres à l'acquisition des faits sur lesquels reposent les techniques et les théories actuellement admises.

De nos jours, les recherches sont activement poussées dans deux voies différentes : étude des propriétés et étude de la structure interne des colloïdes ; et très souvent le chercheur qui suit l'une de ces voies est insuffisamment renseigné sur les résultats acquis dans l'autre domaine. Il arrive très fréquemment de rencontrer dans la littérature des faits extrêmement intéressants, des expériences de premier ordre, pour lesquels leur auteur propose des explications basées sur des conceptions nettement retardataires.

Au point où en sont maintenant ces études, il ne semble pas que l'on puisse séparer, comme on a eu tendance à le faire, l'examen des propriétés et celui de la structure interne, de même qu'il est devenu impossible d'établir une théorie

logique à la suite d'expériences faites avec une seule technique. Au contraire, l'histoire contemporaine des sciences montre que, dans tous les domaines, ce sont les progrès de la technique qui ont provoqué les plus profondes révolutions dans les théories.

Lorsque l'on essaie d'avoir une vue d'ensemble sur la « colloïdologie », des contradictions de principes et d'écoles viennent constamment compliquer les efforts. Mais en examinant de très près les résultats exposés dans une littérature importante (plus de trois mille mémoires nous sont passés entre les mains en 4 ans $1/2$) impossible à rapporter dans la bibliographie de cet ouvrage, il apparaît que certains auteurs arrivent souvent à des contradictions théoriques, à la suite d'expériences qui ne sont pas faites avec une rigueur et une précision suffisantes, surtout dans le cas du sérum sanguin, dont les réactions sont toujours très subtiles et très sensibles aux conditions expérimentales.

Avant d'entreprendre une série de mesures sur les variations de l'indice de réfraction du sérum dans des conditions variées, nous avons donc voulu étudier de très près l'appareillage utilisable, et nous avons été conduits à construire un instrument qui nous semble mieux adapté aux recherches biologiques. La description de la méthode que nous avons mis au point fait l'objet de la première partie de notre travail.

Les premiers résultats de nos mesures, effectuées avec une précision suffisante, n'ont pas tardé à confirmer nos assertions précédentes : on verra, en effet, dans la deuxième partie, qu'il est impossible, dans le cas du sérum, de souscrire aux affirmations des auteurs qui, comme Kruyt (82), nous disent que « la réfraction est une propriété additive pour *tous* les colloïdes » (et le mot *tous* est aussi souligné dans le texte de cet auteur).

L'étude de l'indice de réfraction du sérum n'ayant jamais été très poussée, il était nécessaire de voir quelles peuvent être les perturbations apportées par la présence de substances étrangères. L'interprétation des variations que l'on obtient dans ces conditions soulève toute la question de la structure physico-chimique du sérum ; nous verrons incidemment qu'elle n'est pas justiciable de la notion « d'espace solvant », et qu'il n'a pas été possible d'aboutir à des explications cohérentes sans modifier quelque peu certaines idées sur les conditions de la stabilité du sérum. Les recherches expérimentales entreprises sur ce sujet accessoire feront l'objet de la troisième partie de ce travail.

Dans la quatrième partie, on verra que des mesures réfracto-métriques dans le sérum en fonction des variations de sa stabilité confirment les vues qui se déduisent de l'étude de son hydratation, et dans la cinquième partie, il sera montré que ces conceptions, qui s'apparentent aux théories moléculaires de la structure du sérum, avancées par quelques savants américains et français, permettent d'expliquer très complètement toutes les particularités présentées par l'indice de réfraction au cours de nos expériences, et peuvent servir à l'interprétation d'un certain nombre de réactions employées en clinique pour apprécier la stabilité de l'édifice sanguin.

Nous espérons que nos expériences apporteront un peu plus de clarté, aussi bien au sujet de la structure physico-chimique du sérum qu'au point de vue de

ses propriétés réactionnelles et des conditions de sa stabilité — ces différents ordres d'idées apparaissant étroitement liés les uns aux autres — et qu'elles feront mieux ressortir l'importance de certaines questions restant encore en suspend, tout en montrant dans quelles voies il semble que l'on puisse s'engager pour espérer les solutionner.

Arrivés au terme du programme que nous nous étions fixé, il nous est particulièrement agréable de rappeler à M. le docteur J. Millot, professeur à la Faculté des Sciences de Paris, toute la reconnaissance que nous lui devons pour l'accueil qu'il nous a fait depuis longtemps dans son laboratoire, l'aide matérielle et les conseils éclairés qu'il n'a cessé de nous prodiguer depuis le début de nos études, et qui ont puissamment contribué aux résultats.

Nous tenons également à remercier tous ceux qui nous ont aidé : M. Lecomte du Nouy et M. René Wurmser, dont les conversations très éclairées qu'ils ont bien voulu nous accorder nous ont grandement aidé à tirer au clair des résultats apparemment très embrouillés de prime abord ; et M. Brocq-Rousseu, pour la grande amabilité qu'il a toujours eu de nous procurer les échantillons de sérum dont nous avions besoin.

Disons encore qu'une partie importante de ces recherches a été poursuivie avec l'aide des subventions de la Caisse nationale des Recherches scientifiques et de l'Association française pour l'Avancement des Sciences. Enfin, nous devons aussi remercier M. Yvon dont la compétence bien connue en matière de construction optique nous a beaucoup aidé dans la réalisation de nos appareils.

PREMIÈRE PARTIE

LA MÉTHODE INTERFEROMÉTRIQUE

CHAPITRE PREMIER

ETUDE DE L'APPAREIL.

I. — *Rappel des faits généraux.* — Dans ce qui suit, nous nous occuperons uniquement de ce qui peut être utile aux biologistes, en réduisant au minimum les notions physiques indispensables.

La vitesse de la lumière est, dans tous les milieux matériels, plus petite que dans le vide : de deux enceintes identiques, l'une vide, l'autre pleine d'un médium quelconque, la seconde sera traversée moins vite, ou, si l'on veut, le « chemin optique » correspondant sera plus long. Ce chemin optique est en relation avec l'indice de réfraction défini par la relation de Descartes : $\sin i / \sin r = n$ de telle sorte que l'on ait :

$$ln = L \quad (1)$$

dans laquelle : l , est l'épaisseur du milieu considéré, en cm.

n , son indice de réfraction par rapport au vide.

Si l'on parvient à mesurer l et L , n se trouvera déterminé.

L'indice de réfraction n peut être connu par une mesure directe des angles i et r de la relation de Descartes, au moyen des réfractomètres, dont il existe de nombreux modèles. Mais, outre que la précision obtenue n'est pas très grande (3 ou 4 décimales seulement), ces appareils ne permettent que difficilement de comparer dans de bonnes conditions les indices de deux milieux différents.

On peut songer à mesurer directement la longueur du chemin optique L . En 1813, Th. Young, admettant la théorie des ondulations lumineuses exposée par Descartes, puis combattue par Fermat, mais brillamment défendue par Huyghens (traité de la Lumière, 1690), pensa que les ondulations lumineuses étaient toujours décomposables en deux demi-vibrations de signe opposé (les ébranlements ont alors des vitesses égales et de signe contraire). Lorsque deux de ces demi-vibrations, parties en même temps de la même source, arrivent à se rencontrer après avoir parcouru le même chemin, elles doivent s'annuler réciproquement : la lumière ajoutée à la lumière produit alors de l'obscurité.

La découverte des franges d'interférence vérifia pleinement cette conception. La théorie des franges d'interférence est exposée dans tous les traités : nous ne rapportons que ce qui est indispensable à notre sujet.

Lorsque deux rayons lumineux constitués par des vibrations synchrones parties en même temps de deux points très rapprochés A et B d'une source très petite arrivent en C, après avoir parcouru le même chemin, leur action s'ajoute en C et il y a un maximum de lumière (fig. 1). Si, pour une raison quelconque, le chemin AC est allongé, les vibrations arrivant en C ne seront plus en concordance de phase : il n'y aura plus maximum de lumière; si les deux rayons sont complètement en opposition de phase (si l'un d'eux a subi un retard égal à $\frac{1}{2}$ longueur d'onde), il y aura extinction complète. Il existe dans un même plan, un certain nombre de points jouissant de propriétés analogues à celles du point C, de sorte que ce plan présente une succession de maxima et de minima de lumière entre lesquels se trouve répartie toute l'énergie issue des points A et B. Le même raisonnement s'appliquant à chacun de ces points, on conçoit que, lorsque l'un des rayons se trouve ralenti dans sa marche, l'ensemble de ces maxima et minima de lumière se déplace d'un côté ou de l'autre de l'axe géométrique de la figure (et dans un plan perpendiculaire à la direction AB-C).

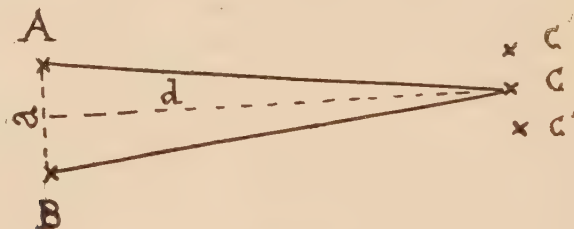


FIGURE 1

L'écartement x entre deux maxima consécutifs (deux franges brillantes ou noires) dépend uniquement de la distance A-B et de la longueur d'onde λ de la lumière employée, toutes choses égales d'ailleurs, et l'on a :

$$x = \frac{d \lambda}{a} \quad (2)$$

Le déplacement par rapport à la position des franges lorsque les deux trajets sont identiques dépend uniquement de la différence de longueur entre ces deux trajets, c'est-à-dire des chemins optiques correspondants. Une mesure de ce déplacement des franges permet donc de trouver la valeur de cette différence de chemin optique, et par conséquent, de la différence dn des indices de réfraction des milieux respectifs dans lesquels s'effectuent les deux trajets. Il est possible d'établir théoriquement, géométriquement et expérimentalement, que le déplacement est égale à la longueur d'une frange entière quand on a :

$$l \, dn = \lambda \quad (3)$$

L'épaisseur l pouvant être rendue très grande par rapport à λ (plusieurs millions de fois dans un certains cas), on voit que cette méthode permet de mesurer des dn extrêmement faible. La largeur d'une frange entière peut être définie par la distance qui sépare dans l'instrument deux points homologues de deux franges brillantes consécutives (ou de deux franges noires consécutives). Cette

distance, peut être évaluée avec une approximation de 1/10 ou de 1/20 ou même de 1/100 dans les appareils de très haute précision.

Les interféromètres sont donc des appareils permettant de mesurer de très petites variations (ou différences) d'indice de réfraction. Ils ont été depuis longtemps appliqués à l'étude de nombreux problèmes. Signalons les travaux de Jamin, intéressants au point de vue historique (66); la découverte de l'argon par Lord Raileich (125), les études de Fiseau sur la dilatation des corps. Plus récemment D. Berthelot applique cet instrument à la mesure de la température des gaz, et Chaudron étudie par le même procédé l'équilibre CO-O₂ et les gaz dissous dans les métaux (28). Vautier étudie de même les vibrations et la propagation du son dans les tuyaux, et M. Thovert inaugure en 1917 une méthode interférentielle appliquée à l'étude de la propagation des projectiles dans l'air, dont les applications à l'étude des phénomènes balistiques a été reprise par P. Libessart (édit. de la *Revue d'Optique*, 1931). Signalons également les travaux de Danjon sur la scintillation stellaire étudiée au moyen d'un appareil basé sur le même principe, et aussi le dosage des gaz respiratoires par la méthode de W.-R. Thomson (138).

Enfin, nous ne pouvons terminer cette courte énumération sans citer les travaux considérables de M. Fabry et de ses collaborateurs, qui ont fait faire des progrès considérables à la théorie des interférences.

A la suite des travaux de Hirsch, connus depuis 1917, l'interféromètre est entré dans les mœurs d'un bon nombre de biologistes, pour l'étude et la mesure des actions fermentatives dans les sérums. Nous aurons à revenir sur cette question (page 140).

Il existe un certain nombre d'appareils de différentes marques, aptes à se prêter à des recherches biologiques, sans parler de l'appareil de Michelson, beaucoup trop délicat pour cet usage. Disons simplement que tous ces appareils doivent présenter des rayons lumineux bien séparés sur une longueur aussi grande que possible. Tous les appareils actuels sont généralement coûteux, et construits dans des buts divers, comportent des inconvénients et des avantages également divers, que l'on aimerait à voir réunis sur le même instrument.

Aussi avons nous étudié de très près le fonctionnement des appareils, et notamment de celui de Zeiss, dont on trouvera la description dans un bon nombre des ouvrages contenus dans notre bibliographie.

Il nous a semblé que l'interféromètre tel qu'il est conçu actuellement pouvait être heureusement simplifié, perfectionné et rendu plus apte à des mesures biologiques RAPIDES, tout en augmentant sa sensibilité.

Après de longs tâtonnements pour déterminer la forme la plus propice à donner à chacune des pièces constitutives, nous sommes parvenus à établir un appareil possédant un certain nombre de caractéristiques intéressantes, et que nous allons décrire.

2. *Description de l'appareil.* — Nous nous sommes arrêtés à l'interféromètre à fentes dont le principe découle des expériences de Th. Young.

L'instrument comporte cinq parties : la source lumineuse, le dispositif pro-

ducteur des franges, les cuves pour l'examen des liquides, le compensateur et la lunette de visée, le tout monté sur un support métallique rigide.

Le support de la source lumineuse est conçu de telle façon qu'il permet de changer très rapidement la nature de celle-ci. Les sources employées dépendent du travail envisagé. Dans un certain nombre de cas, la lumière blanche donne une approximation suffisante, notamment pour un grand nombre de recherches biologiques. Mais il faut alors avoir constamment à l'esprit un certain nombre de causes d'erreur. Avec la lumière blanche, seule la frange centrale est vraiment nette, et peut être repérée facilement, mais le phénomène du Sprung se produit avec une grande facilité. Enfin, son emploi est à rejeter lors de l'examen de liquides ayant des bandes d'absorption notables dans le spectre visible : en effet l'indice de réfraction subit des variations importantes au voisinage de ces bandes, ce qui a pour effet de modifier la répartition des couleurs dans le spectre d'interférence, donc de déplacer les franges. On pourra consulter à ce sujet le traité de physique de Ollivier (114).

Si l'éclairage est obtenu avec une source blanche, on prendra dans les calculs $\lambda = 50.000$ ou 6.000 uA selon sa température. Le chiffre de 6.000 indiqué par Chaudron (28) est généralement beaucoup trop élevé.

Dans beaucoup de cas, il y aura avantage à substituer à la lumière blanche une source jaune : on installera alors un filtre jaune dont le commerce fournit un grand nombre d'échantillons. Nous nous sommes également bien trouvés de l'emploi d'un verre au cadmium laissant passer un flux de longueur d'onde dominante 5.825 uA , pour une lampe dont la température de filament était de 2.900 degrés. Ce flux correspond à peu près à celui émis par les lampes d'automobile Yvel jaunes (106). Cette lumière donne toute satisfaction pour les mesures sur le sérum sanguin.

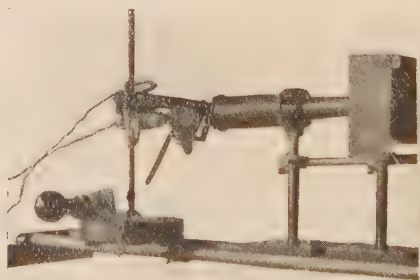


FIGURE 2

Dans d'autres cas, il est nécessaire d'opérer avec une lumière monochromatique. Si l'on n'a pas besoin d'un très grand coefficient de finesse, on pourra utiliser une lampe à vapeur de mercure ou un tube à sodium. La figure 2 représente, montée sur notre appareil, un tube à mercure en quartz fonctionnant sous $80 \text{ v.} - \text{I}, 3 \text{ a.}$, devant lequel nous plaçons des écrans convenables :

verre rouge à l'or transmettant 2% pour $\lambda = 6000$ et 65% pour $\lambda = 6550$.
 verre au cadmium jaune — 2% $\lambda = 5.000$ 75 $\lambda = 6050$.
 verre au didyme absorbant le jaune.

Dans le plus grand nombre des cas cette combinaison est largement suffisante. Naturellement pour des mesures métrologiques de haute précision, il est nécessaire de faire usage des tubes à vapeur à basse pression, notamment des modèles étudiés par Arnulf et Dunoyer. Pour les détails concernant ce dernier point nous renvoyons à Fabry (41). Ces considérations sont également valables pour l'appareil construit par Jobin et Yvon (page 25).

Le dispositif producteur des franges, monté dans un tube en laiton, est installé au voisinage de la source. Il comprend une fente d'entrée de 1/100 de mm. de large, placée au foyer d'une lentille achromatique de 15 cm. de focale. A quelques cm. à la suite de cette lentille se trouvent deux fentes parallèles de 1/50 de mm. de large espacées de 2,5 mm. et jouant le rôle de sources secondaires synchrones.

Le support des cuves peut revêtir un grand nombre d'aspect, pourvu que les cuves soient facilement mises en place et qu'elles occupent toujours automatiquement la même position. La précision doit être de l'ordre du 1/20 de mm., et il faut supprimer autant que possible dans sa construction tout angle vif où s'accumule la poussière.

Les autres pièces demandent une étude plus détaillée.

Lunette de visée. — La lunette est constituée par un tube sur lequel peuvent se fixer des objectifs et oculaires de microscope. Les objectifs interchangeables permettent de faire varier dans des limites étendues la sensibilité de l'appareil.

Un objectif Leitz n° 5 auquel on adjoint un oculaire 10, permet d'avoir des franges occupant 20 divisions du micromètre contenu dans l'instrument.

Il est bon de rendre indépendantes les deux lentilles de l'oculaire. Le déplacement de la lentille frontale, située à l'intérieur du tube, permet de varier la largeur de l'interfrange et de l'amener à occuper un nombre de divisions déterminé du micromètre, ce qui assure un repérage simultané des deux bords de la frange centrale, diminuant ainsi les erreurs de parallaxe.

La figure 6 montre les détails de notre instrument.

4. *Utilité du micromètre.* — Dans la plupart des appareils, pour évaluer la grandeur de l'interfrange, il est nécessaire d'amener la frange centrale de l'un des spectres d'interférence en coïncidence avec la frange d'ordre I d'un autre spectre fixe de comparaison (comme dans le cas de l'appareil de Zeiss). Il est facile de voir que cette façon de procéder entraîne forcément une erreur qui peut devenir importante et dépasser beaucoup les erreurs de lecture. En effet, la frange brillante centrale ne peut coïncider exactement avec la frange d'ordre I de l'autre spectre, car elle ne peut avoir la même largeur en lumière blanche ou en lumière complexe : la largeur des franges varie à mesure que l'on se rapproche des bords du champ de la lunette, et cette variation dépend de l'ordre de la frange. Cette première cause d'erreur disparaît en lumière monochromatique, mais il en est

une autre qui persiste dans tous les cas. L'irradiation rend les franges brillantes apparemment plus larges que les franges noires. Les bords de la frange centrale de l'un des spectres n'étant pas dispersés de la même façon que ceux de la frange d'ordre I de l'autre spectre, la coïncidence est à peu près impossible à évaluer avec rigueur.

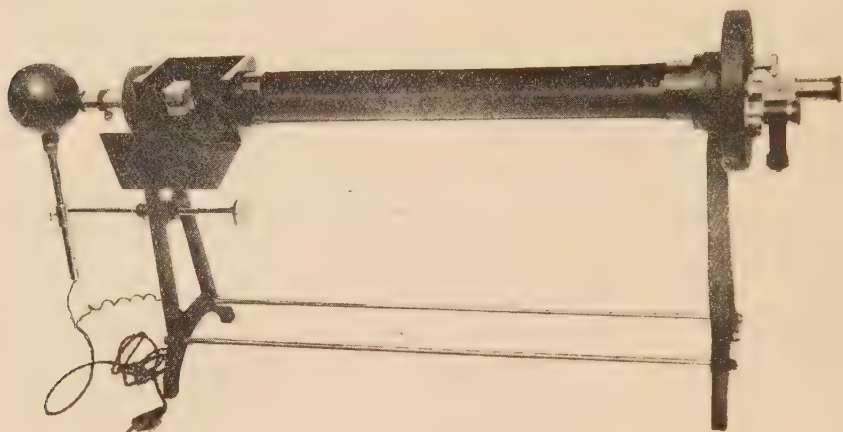


FIGURE 3

Pour toutes ces raisons, nous avons préféré supprimer le spectre de comparaison et repérer la position des franges au moyen d'un micromètre qui n'introduit qu'une seule erreur due à la diffraction par la graduation, et encore cette erreur est-elle constante. Le micromètre est encore utile pour constater que le réglage de l'appareil ne varie pas au cours d'une série de mesures. Enfin, pour de très petits déplacements des franges, il est possible de lire directement leur position sans se servir du compensateur (bien que dans ce cas, la précision soit diminuée) ; ce qui permet de gagner un peu de temps ; dans ce cas, les calculs sont encore susceptibles des mêmes solutions que nous indiquons dans ce travail.

5. *Lectures.* — Pour une même mesure, il est nécessaire de repérer la position des deux bords de la frange centrale. Les bords des franges ne peuvent être absolument nets (Ollivier 114), de sorte qu'il faut apprécier dans tous les cas l'égalité des éclaircissements au niveau de chacune des divisions du micromètre correspondant aux deux bords de cette frange. Avec de l'entraînement, on arrive rapidement à repérer avec une grande précision la position du spectre d'interférence. Au sujet du mode de repérage par les lunettes à réticule, l'article de Th. Eversmann (40) sera consulté avec fruit.

Pour chaque mesure il est nécessaire de répéter les observations trois ou quatre fois à quelques minutes d'intervalle, de façon à s'assurer de la fixité des franges : les pointés doivent être poursuivis jusqu'à ce que leur position ne varie plus. Les causes de déplacement sont multiples et la plus importante réside dans de petites inégalités de température entre les deux cuves ou en deux points d'une même cuve, ce qui pourrait entraîner une erreur de plusieurs divisions du com-

pensateur. Généralement l'équilibre thermique se trouve réalisé en quelques minutes, et l'on en est averti par la fixité de la position des franges. De toutes façon, il faut toujours noter la température à laquelle est faite l'observation, les indices des liquides variant assez rapidement avec la température.

Si on le désire, il est d'ailleurs possible d'enfermer les cuves dans un petit thermostat se fixant lui-même sur le support ordinaire des cuves et dans lequel on peut entretenir une circulation chaude. Cette disposition évite les inconvénients d'avoir une grande chemise thermostatique faisant corps avec l'appareil lui-même, ce qui peut dans certains cas, entraîner des déformations de l'instrument et un déplacement du zéro.

Dans la plupart des cas et pour des mesures précises en lumière blanche, il est bon d'achever la lecture en interposant entre l'œil et la lunette un écran coloré, jaune ou rouge, la position des franges étant préalablement grossièrement appréciée en lumière blanche, ce qui permet de distinguer la frange centrale, chose impossible en lumière colorée. Les calculs seront alors rapportés à la longueur d'onde dominante du flux transmis par l'écran employé.

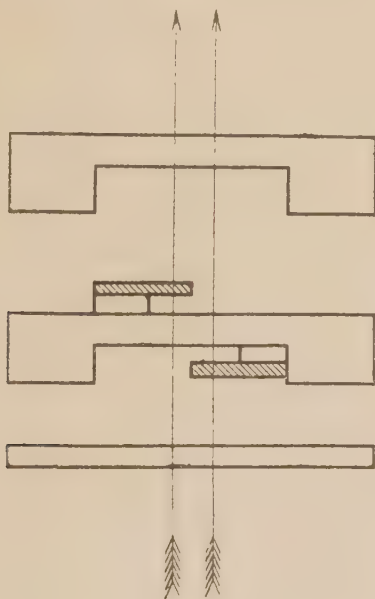


FIGURE 4

6. *Cuves à liquides.* — Les qualités à exiger des cuves d'un interféromètre sont : une solidarité absolue de l'une par rapport à l'autre, de la solidité, une grande facilité de remplissage, de vidage, la possibilité d'effectuer très rapidement un nettoyage rigoureux, et si possible l'indépendance absolue de leur contenu qui ne doivent en aucun cas se mélanger. Ces diverses qualités ne se trouvent pas toujours réunies sur les cuves que l'on trouve dans le commerce.

Aussi avons-nous construit sur un principe tout à fait nouveau des cuves qui

satisfont à ces desiderata. Leur construction est d'ailleurs particulièrement simple et permet de faire varier dans de très larges limites et sans l'emploi de pièces fragiles, l'épaisseur de la couche liquide examinée. L'une des cuves est constituée par deux plaques de glace surfacée de 4 mm. d'épaisseur, l'une étant percée d'un trou de 20 mm. de diamètre. La partie supérieure de cette cuve est fermée par une seconde pièce construite de la même façon. Mais le fond de cette dernière porte, soutenue par de petites cales en glace mince et parallèles, deux lames surfacées, taillées côte à côte dans le même morceau, situées l'une à l'intérieur, l'autre à l'extérieur, et occupant chacune la moitié de la surface utile des cuves. Le tout se fixe au moyen de cales et de valets, sur la platine de l'instrument, la cuve supérieure étant fermée par un fragment de glace à faces parallèles.

On comprend sur la figure 4 comment les deux liquides sont examinés sous la même épaisseur correspondant à celle des lames en porte-à-faux de l'une des cuves. Le remplissage ne nécessite qu'une très petite quantité de liquide (10 gouttes) ; le démontage est instantané et complet, ce qui permet un nettoyage rigoureux et rapide. La manœuvre complète d'une détermination d'indice ne demande que quelques minutes.

7. *Épaisseur de la couche liquide examinée.* — L'épaisseur de la couche liquide devra toujours être mesurée au moyen de l'interféromètre lui-même.

Pour cette mesure, il suffit de placer dans les deux compartiments des cuves des liquides présentant une différence d'indice connue. Le plus simple consiste à partir d'une solution d'indice donné et à la diluer dans des proportions exactes. Nous utilisons une solution à 10% (pesée à 0,5 mmg. près) de sulfate de zinc pur sec à 7 H²O qu'il est facile d'obtenir très pur et pulvérulent. La pesée doit être corrigée de la poussée de l'air et de la température. On effectue à partir de cette solution une dilution à 1/2. Cette dilution peut être faite avec une grande précision en employant la méthode de mesure des volumes décrite plus loin (page).

D'après les mesures de Bary, les indices de ces solutions sont respectivement : 1,3424 et 1,3372, soit à 20° une différence de $dn = 0,0052$. Dans ces conditions pour $\lambda = 5825 \text{ m}\mu$, nous avons, dans le cas de notre appareil trouvé une déviation de 600 divisions du compensateur (toutes corrections faites) par comparaison avec la position occupée par les franges lorsque les deux compartiments sont remplis d'eau (bidistillée dans un serpentin en étain), d'après cela, l'application de la formule (3) donne pour l'épaisseur l de la cuve employée : $l = 2,29 \text{ mm}$. Une autre cuve qui nous a également servi quelquefois avait : 1,64 mm.

8. *Compensateur.* — Le compensateur permet d'amener les franges à occuper un position déterminée dans le champ de la lunette.

Il se place à quelques cm. en arrière des cuves. La pièce essentielle est l'axe (horizontal si les franges sont verticales), rigide et indéformable, portant à l'une ses extrémités deux lames de verre de même indice, inclinées de 15 à 20° l'une par rapport à l'autre. Les deux rayons interférents doivent traverser respectivement chacune de ces deux lames. Une lamelle couvre-objet de microscopie coupée en deux convient très bien pour cet usage.

L'axe du compensateur peut tourner d'angles très petits et exactement mesurables au moyen d'un bras de levier muni d'un ressort de rappel, et commandé par un dispositif analogue à un palmer dont la graduation peut être facilement étalonnée en nombre de franges ou en mm.

Ce système présente un certain nombre d'avantages sur le dispositif habituel (compensateur d'Arago) dans lequel l'une des lames est fixe. En particulier, il est ici possible de faire varier l'angle entre les deux lames et de modifier à volonté par ce moyen la sensibilité de l'ensemble, ce qui est parfois très utile : dans notre appareil, les deux lames sont montées sur deux axes concentriques et l'angle peut être exactement repéré au moyen d'une graduation auxiliaire. Enfin il devient toujours possible de trouver une position relative des deux lames pour laquelle le nombre de division du tambour de commande correspondant à un déplacement de 1 frange entière est lié par une relation linéaire à l'indice de réfraction du liquide examiné ce qui facilite beaucoup les calculs et les corrections (page 17).

9. *Manœuvre du compensateur.* — Le zéro de l'instrument correspond à la position occupée par les franges lorsque les deux cuves contiennent le même milieu.

Lorsque l'un des milieux est différent, les franges se trouvent déviées dans un sens ou dans l'autre, et il est possible de les ramener à leur position initiale en agissant sur le compensateur. Comme pour toutes les vis micrométriques, il est nécessaire de manœuvrer le bouton de commande toujours dans le même sens. Selon le déplacement du spectre, on peut ainsi être amené à dépasser la position initiale pour y revenir ensuite en tournant ce bouton dans le sens voulu. La lecture à l'aller et au retour donne généralement des chiffres très voisins, sinon identiques, mais l'écart éventuel peut varier avec le temps, et l'on a ainsi une évaluation de l'usure de l'instrument. Par construction le sens de manœuvre du compensateur est celui des aiguilles d'une montre.

10. *Étalonnage du compensateur.* — Les déplacements des franges peuvent ne pas être en proportion simple avec les indications du compensateur dans toutes l'étendue de la graduation : il est nécessaire de procéder à un étalonnage.

Pour cette opération, l'une des cuves sera remplie d'eau distillée, et l'autre recevra des liquides l'indice croissant. Le spectre sera ramené en coïncidence avec les repères choisis et la division correspondante lue sur le compensateur. Puis on manœuvrera celui-ci de façon à obtenir un déplacement de 1 frange entière, et la nouvelle division sera lue. La différence entre ces deux lectures donne, pour des indices voisins de ceux utilisés, le nombre N de divisions du compensateur correspondant à un déplacement de 1 frange. Des mesures identiques seront aussi exécutées lorsque les deux compartiments seront remplis d'eau, ce qui donne le zéro de l'appareil pour lequel 1 frange correspond à un nombre A de divisions. Pour l'utilisation de ces données, il sera commode de porter ces résultats sur un graphique, au moins dans le cas général où le nombre de divisions ne varie pas linéairement avec la différence dn des indices des liquides placés

successivement dans les cuves. Mais il est souvent possible de régler le compensateur, spécialement étudié dans ce but, de telle façon que le graphique représentatif de $C = A-A'$ en fonction de dn soit une ligne droite de pente facile à calculer. Dans le cas de l'appareil qui nous a servi, cette droite est inclinée sensiblement à 45° , de sorte que la correction se ramène à effectuer une simple règle de trois. Nous avons, en effet, obtenu les résultats contenus dans le tableau n° I :

Position du compensateur	Déviatiou brute	N. de div. pour 1 fr.	Différence
925	0	40	-
1564	639	36	4
1729	804	34,5	5,5

TABLEAU I .

Ces chiffres vérifiés plusieurs fois au cours de nombreux mois d'études se sont montré constants. Il est facile de vérifier que l'approximation précédente est suffisante. Nous voyons que le rapport des différences observées est :

$$\frac{(40-36) \cdot 804}{639} = 5,0 \text{ au lieu de } 5,5 \text{ trouvé.}$$

La différence de 0,5 division du compensateur est complètement négligeable, puisque la lecture n'est possible en général, qu'à deux divisions près, soit 1,20 de frange, la graduation du bouton de commande employé n'étant pas particulièrement bien adaptée à l'appareil que nous nous sommes construit.

Chaque détermination faite avec cet instrument doit donc être corrigée en tenant compte de cet étalonnage. Soit à calculer l'indice relatif exact D_n par rapport à l'eau d'un liquide pour lequel on observe une déviation de x divisions du compensateur, la cuve employée correspondant à une épaisseur de lmm de liquide, la longueur d'onde étant λ . Le zéro étant le même que celui déterminé au cours de l'étalonnage (ou se trouvant au voisinage de la division 925 dans le cas envisagé), la largeur d'une frange exprimée en divisions peut être représentée par la relation :

$$1 \text{ fr.} = 40-a ;$$

le nombre a , fonction de x , peut s'évaluer à partir des chiffres obtenus au cours de l'étalonnage :

$$a = 4x/639 = 5,5x/804 = \dots \text{ etc.}$$

Dans le cas plus général où la pente du graphique ne serait pas de 45° (où l'on a un facteur spécifique égale à 1) on aurait :

$$a = 4bx/639 \dots\dots \text{ etc.,}$$

b dépendant de la pente de ce graphique.

D'après cela, l'indice du liquide sera donné par la relation classique transformée ainsi :

$$iDn = \frac{\lambda x}{40 - \frac{4bx}{639}}$$

d'où l'on tire facilement :

$$Dn = \frac{\lambda x}{l \left(40 - \frac{4bx}{639} \right)} \quad (4)$$

équation valable pour notre appareil.

On voit d'après cela que la correction envisagée n'est jamais négligeable, et prend d'autant plus d'importance que l est plus considérable.

Dans le cas général, un raisonnement analogue donne :

$$Dn = \frac{\lambda x}{l \left(A - \frac{Cbx}{y} \right)} \quad (5)$$

expression dans laquelle : Dn indice relatif cherché x : déplacement brut des franges- A : nombre de divisions correspondant à un déplacement de 1 frange pour $Dn=0$ - $C=A-A'$ tel que A' soit le nombre de divisions correspondant à un déplacement de 1 frange pour $Dn=y-b$: facteur dépendant de la pente du graphique de $C = f(Dn)$.

11. *Application pratique.* — Dans la pratique, la relation (5) ne peut encore intervenir immédiatement, car elle doit jouer simultanément avec la correction de l'erreur que peut entraîner une mauvaise position des cuves. Bien que cette dernière soit négligeable dans le cas de notre appareil, (page 8) nous donnerons cependant le calcul complet, car il peut ne pas en être toujours de même.

Il est donc nécessaire de faire entrer dans la relation (5) une valeur de x corrigée d'une quantité proportionnelle à la valeur véritable x'' : mais x'' est inconnu. Cependant il est possible d'appliquer la théorie des erreurs et de remplacer la valeur x'' par la grandeur expérimentale x . On conçoit que, si cette façon de faire ne soit pas très satisfaisante au point de vue mathématique, il n'y en ait pas d'autre possible, et que d'autre part l'approximation ainsi obtenue soit plus que suffisante. En effet x'' ne doit pas différer de x de plus de quelques divisions, ce qui ne peut avoir d'importance sur la correction α , puisque nous avons vu que celle-ci passe de 0 à 4 quand x passe de 0 à 639 par exemple (tableau I).

D'après cela la valeur de x'' sera telle que :

$$x''/40 = \frac{x}{40 - \frac{4x}{639}} \quad \text{dans le cas de notre appareil. On ne tire}$$

facilement :

$$x'' = \frac{40x}{\frac{(40-4x)}{639}} \quad (6)$$

La valeur x'' permettra de calculer directement s'il y a lieu l'indice Dn :

$$Dn = \frac{\lambda x''}{40l} \quad (7)$$

et c'est aussi sur ce chiffre que pourront s'appliquer les autres corrections.

Remarquons qu'il n'est pas toujours nécessaire de calculer le terme a (ici égale à $4x/639$) puisque certaines de ses valeurs sont mesurées expérimentalement au cours de l'étalonnage du compensateur.

12. *Importance de la correction.* — Soit une solution provoquant par comparaison avec de l'eau distillée, un déplacement des franges correspondant à $x = 78$ divisions, sous une épaisseur de $l = 1,64$ mm.

Le calcul de n sans correction donnerait :

$$n = 1,33303 + \frac{5825 \cdot 10^{-3} \cdot 78}{0,164 \cdot 40} = 1,33371$$

Si l'on effectue la correction envisagée, on trouve par contre :

$$n = 1,33303 + \frac{5825 \cdot 10^{-3} \cdot 78}{0,164 \cdot \frac{40-4,78}{639}} = 1,33369$$

Cette erreur est donc loin d'être négligeable puisque l'appareil ne met de déceler avec facilité des Dn de l'ordre de la 5^e décimale.

13. *Correction de position des cuves.* — Les cuves ne sont pas forcément rigoureusement normales à la direction des rayons lumineux. Il s'ensuit une déviation inégale pour chacun des deux rayons interférents, quand les deux compartiments des cuves renferment des liquides d'indices différents : le spectre se trouve dévié d'une quantité qui dépend à la fois de la différence des indices des deux liquides considérés et de la grandeur réelle de ces indices. Il convient donc de corriger les indications de l'appareil en tenant compte de ces faits. Disons de suite que, dans un appareil bien construit, cette correction doit être presque négligeable.

La correction envisagée peut être déterminée expérimentalement. Mesurons la position des franges : *a*) les deux cuves étant remplies d'un même liquide d'indice élevé soit par exemple le SO_4Zn à 10% pour lequel $n = 1,3421$, et *b*) avec de l'eau pure. Entre ces deux positions existe un décalage qui, dans le cas de notre appareil, était de 7 divisions du compensateur ; soit $3,4/20$ de frange. Ce décalage s'est produit dans un sens tel que, si nous prenons pour point de départ la position des franges lorsque les deux cuves sont remplies de sulfate de zinc, les indices réfraction se trouvent surestimés. Lorsque par la suite, nous remplissons les deux cuves respectivement d'eau pure et d'un liquide d'indice

$n = 1,3372$ par exemple, l'indice de ce dernier se trouvera par conséquent, sous-estimé si nous prenons comme point de départ la position des franges lorsque les deux cuves sont remplies d'eau. Mais l'erreur sera dans ce cas la moitié du chiffre précédent, puisque maintenant le liquide perturbateur se trouve renfermé dans une seule des cuves et de ce fait, est examiné sous une épaisseur deux fois moindre.

En définitive, nous voyons que dans le cas de notre appareil, pour une différence d'indice $dn = 0,0052$, entre les liquides placés successivement dans les cuves, l'erreur de position est de $3,4/20$ de frange, donc sensiblement supérieure aux erreurs de lecture. D'après l'équation de Descartes : $\sin. i / \sin. r = n$, cette erreur est directement proportionnelle à n donc aussi à la différence des indices considérés dn . Nous pouvons donc tenir le raisonnement suivant : si pour un liquide ayant avec l'eau pure prise comme terme de référence une différence d'indice dn à mesurer, nous trouvons un déplacement du spectre de x franges (l'une des cuves étant remplie d'eau), cette déviation devra être augmentée d'une quantité proportionnelle à dn et qui, dans le cas de notre appareil, a pour valeur :

$$\frac{(1,70 \cdot dn)}{100. (1,3424-1,33303)} = \frac{0,085 \text{ fr. } dn}{0,0094}$$

D'après cela l'équation connue donnant l'indice relatif en fonction du déplacement x des franges (1) devient :

$$l dn = \lambda \left(x + \frac{0,0085 \cdot dn}{0,0094} \right) \quad (8)$$

d'où l'on tire :

$$dn = \frac{\lambda \cdot x}{l - (\lambda \cdot 0,085) / 0,0094} \quad (9)$$

Ici x est le nombre de franges et de centièmes de franges.

13. *Application pratique.* — Dans la pratique, l'expression (9) ne peut intervenir directement, car il est nécessaire de pouvoir effectuer simultanément les autres corrections, et notamment de pouvoir tenir compte de l'étalonnage du compensateur. Mais un raisonnement analogue à celui de la page nous permet de corriger la valeur de X et de trouver une valeur x''' qui, par application de la relation classique (1) donne directement la valeur de Dn .

Ecrivons que : $dn = \lambda x''' / l$

En rapprochant de la relation (9) on trouve :

$$\lambda x''' / l = \frac{x \lambda}{l - (\lambda \cdot 0,085 \lambda) / 0,0094}$$

d'où finalement :

$$x''' = \frac{xl}{l(\lambda, 0,085)} \quad (10)$$

$$0,0094$$

dans l'exemple choisi.

14. *Opportunité de la correction de position des cuves.* — On peut se demander si la correction de position des cuves doit être effectuée sur la valeur brute de la déviation des franges ou sur cette valeur corrigée de l'erreur du compensateur.

La comparaison des formules (4) et (10) nous montre que l'erreur due au compensateur est de beaucoup la plus importante, la seconde n'intervenant guère que pour des mesures très précises à faire avec un appareil dont on n'est pas sûr des qualités mécaniques. Il semble donc recommandable d'effectuer en premier lieu le calcul tenant compte de l'étalonnage du compensateur. Prenons le cas d'une substance pour laquelle nous avons trouvé un indice relatif à l'eau produisant un déplacement du spectre de 639 divisions. L'application de la formule (6) donne : $x'' = 710,33$, et la correction due à la position des cuves donne ensuite : $x''' = 710,30$ ce qui, dans les deux cas, correspond à un déplacement de 17,75 franges la différence possible portant sur la troisième décimale ce qui est négligeable. Le résultat est exactement le même si nous opérons inversement.

On voit que, pour notre appareil, la correction due à la position des cuves est négligeables ; il en est de même dans le plus grand nombre des cas, pour des liquides dont l'indice relatif permet de se tenir dans les limites de la graduation la plus couramment employée. Nous avons tenu cependant à indiquer le calcul complet car il peut ne pas en être toujours ainsi, soit que les cuves se trouvent placées légèrement obliques sur le trajet des rayons lumineux, soit que leurs faces ne soient pas rigoureusement parallèles. D'ailleurs, même dans le cas d'appareil présentant les qualités requises, la correction devient nécessaire pour des liquides d'indices un peu élevé.

15. *Phénomène du sprung.* — Dans certains cas, la dispersion du liquide examiné est telle que l'aspect des franges est profondément modifié : la frange centrale n'est plus blanche ou faiblement irisée, mais ressemble exactement à la frange située normalement immédiatement à droite ou à gauche (frange d'ordre 1), et le spectre semble posséder une frange centrale noire (il ne faut pas alors le confondre avec un spectre d'interférence à centre noir proprement dit, qui ne peut être obtenu par ce dispositif). Dans ces conditions, on commet forcément sur la position des franges une erreur égale à la largeur de l'interfrange et dont il est impossible de déterminer le signe.

Si l'instrument est rigoureusement construit et les lentilles bien achromatiques il n'y a aucun moyen de trouver la position exacte des franges. Pour obvier à cet inconvénient, nous avons pensé pouvoir utiliser une lunette dont un léger chromatisme a été réservé sur les bords du champs, ce qui d'ailleurs ne gêne en rien la mesure dans la plupart des cas.

Lorsqu'il y a saute d'une raie, pour savoir laquelle des deux franges irisées

correspond à la frange blanche primitive, il suffit de déplacer lentement les franges au moyen du compensateur et de noter les changements d'aspect de la frange centrale apparemment noire : lorsqu'elle arrive sur l'un des bords du champ de la lunette ses deux marges s'irisent de deux couleurs complémentaires : la teinte de plus grande longueur d'onde se trouve située du côté de la frange qui doit être considérée comme centrale.

Le phénomène du Sprung étant assez compliqué, il y aurait encore d'autres corrections spéciales à faire dans ce cas, mais, même sans cela, l'erreur se trouve considérablement réduite.

16. *Influence de la dispersion sur les mesures.* — Ernest Karwat a étudié l'influence de la dispersion sur les mesures interférométriques dans le cas des gaz examinés avec l'appareil de Haber-Lowe (73).

En lumière blanche, lorsque le compensateur a ramené les franges à coïncider avec les repères, la frange blanche qui apparaît alors n'est généralement plus la frange primitive, mais présente avec elle un décalage i , manifeste dès que l'épaisseur l de liquide est un peu considérable. Ce décalage varie avec l et en fonction de l'indice n des lames du compensateur et de celui du liquide étudié, et le rapport i/l nombre total de franges déplacé ne dépend que de ces deux facteurs.

Dans le cas de deux gaz A et B, pour lesquels $i'A$ et $i'B$ par rapport au vide sont connus, on a : $i = i'A - i'B$. Dans le cas du mélange de ces deux gaz dans les proportions de $a\%$ de A et $b\%$ de B on a :

$$i'_{AB} = \frac{a.iA}{100} + \frac{b.iB}{100} \quad (11)$$

L'auteur donne des exemples et une table des valeurs de i .

17. *Vérification de l'appareil.* — D'après ce que nous avons dit du fonctionnement de l'interféromètre, il est nécessaire de procéder de temps à autre à quelques vérifications.

1. *Fixité des cuves.* — Pour s'assurer que la position des cuves est invariable, il suffit de retirer et replacer celles-ci remplies d'un liquide quelconque, cinq ou six fois de suite : la position des franges ne doit pas varier. Voici dans le tableau n° 2 les déplacements des franges obtenues au cours de 7 séances de vérification échelonnées sur 3 mois : une seule fois un déplacement de $1/20$ de frange fut observé, aussitôt corrigé. Ajoutons qu'il est toujours bon, au cours d'une série de mesures, de faire quelques déterminations semblables, ce qui ne demande que quelques minutes.

2. *Fidélité du compensateur.* — Il est matériellement impossible d'obtenir un compensateur dont les indications soient rigoureusement proportionnelles à dn dans toute l'étendue de sa course : cet appareil doit toujours être étalonné de la façon que nous avons indiqué. Pour s'assurer de sa fidélité, il est bon de refaire de temps à autre cet étalonnage avec les mêmes solutions qui ont servi la première fois, conservées avec tout le soin désirable (ampoules scellées), ou en employant des liquides purs rigoureusement reproductibles industriellement

(alcool, acétone, etc.). Pour notre compte, nous nous sommes bien trouvés de l'emploi d'une solution saturée de iodure de mercure dans l'iodure de potassium : cette solution conservée en ampoules scellées à l'abri de la lumière peut rester inaltérée plusieurs années. Pour les dilutions à effectuer à partir de cette solution, nous conseillons d'utiliser des microburettes graduées et étalonnées pour l'usage desquelles nous renvoyons à l'ouvrage de Vigneron (148), ou encore d'utiliser la méthode de numération des gouttes que nous indiquons plus loin (page 30).

3. Constance du zéro. — La fixité du zéro dépend surtout du bon état mécanique du compensateur. La position repère des franges sera déterminée, les deux cuves étant remplies d'eau distillée. Les cuves étant en place, il faut déplacer et ramener le spectre à sa position initiale plusieurs fois de suite, en s'assurant à chaque fois que cette position correspond toujours à la même division du tambour du compensateur, les lectures étant naturellement faites avec les précautions que nous avons indiqué.

Expérience N°	Déplacement observé en 1/20 de fr.
1	0
2	0
3	0
4	1
5	0
6	0
7	0

TABLEAU 2 .

18. *Répérage photo-électrique de la position des franges.* Bien que la netteté du spectre permette une grande précision dans le repérage de la frange centrale, il reste encore que le facteur personnel de l'observateur peut toujours intervenir. En effet, le bord des franges n'est jamais net : en différents points du spectre l'intensité lumineuse varie selon une formule détaillée dans le traité de Ollivier

(114). L'observateur est donc toujours obligé d'apprécier la position des franges par rapport au micromètre et de faire un jugement quant à l'égalité des éclaircissements au niveau des deux divisions encadrant la frange repère.

Il nous a paru utile d'éviter les inconvénients en remplaçant la lecture directe par un procédé automatique de repérage. En conséquence, en réglant convenablement le tirage de l'oculaire de la lunette, on amène l'image des franges à se former à la surface d'une pile photoélectrique à couche d'arrêt montée de la façon suivante. La surface de cette pile présente une rayure, aussi étroite que possible et atteignant l'électrode métallique. La pile est montée sur un chariot à vis réglé de telle façon que sa rayure, parallèle aux franges, coïncide avec le milieu de la frange centrale limitée par un diaphragme. Les deux moitiés de la surface sensible de la pile reçoivent chacune une électrode et le tout est couplé avec un galvanomètre (figure 5) selon un montage différentiel. Il est facile de comprendre que les déplacements des franges augmentent l'éclaircissement sur l'une des moitiés de la pile, tandis qu'il le diminuent sur l'autre, ce qui confère à l'ensemble une très grande sensibilité.

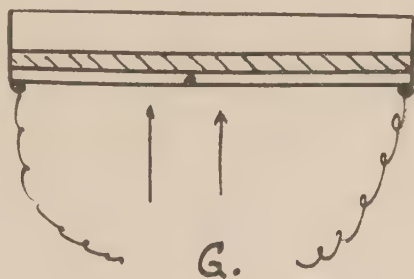


FIGURE 5

Notre appareillage comprend une pile à couche d'or de P. Auger et P. Girard (il existe d'ailleurs des piles beaucoup plus sensibles que celles-ci), et un galvanomètre donnant une déflexion du spot de 1 mm pour un courant de 1.10^{-7} a , à 1 m . Dans ces conditions le repérage des franges est assuré avec une précision de 1/100 de frange en lumière blanche comme en lumière monochromatique.

Ce dispositif se prête particulièrement bien à l'enregistrement de très petits déplacements rapides des franges : pour cela, il suffit de remplacer le galvanomètre par un oscillographe sensible et d'y adjoindre un enregistreur photographique quelconque.

Signalons que Lowry et Alsoff ont également indiqué un procédé photographique assez commode pour enregistrer la position des franges d'interférence (98).

19. *Correspondance des résultats avec ceux de l'appareil de Lowe.* — Pour un certain nombre d'examen biologiques, et en particulier le séro-diagnostic interférométrique, l'opérateur ne demande à l'appareil que des termes de comparaison qui, pour simplifier, seront avantageusement fournis par la simple lecture de la graduation. Aussi est-il nécessaire de pouvoir comparer entre eux les chiffres

indiqués par différents instruments, et en particulier, ceux obtenus au moyen de l'appareil de Haber-Lowe employé depuis longtemps.

Les difficultés rencontrées dans ces études, et signalées dans les travaux de Durupt et de Guillaumin, résident surtout dans les faits suivants, inhérents à l'appareil de Lowe :

a) pour une solution d'un corps pur, le graphique du nombre de divisions du tambour de lecture en fonction de la concentration est représenté par une ligne souvent sinueuse.

b) il en est de même pour la relation qui unit le nombre des divisions du tambour et l'épaisseur de la cuve pour une solution donnée.

c) indépendamment des déplacements plus ou moins rapides du zéro, le nombre de divisions correspondant à un déplacement de 1 frange entière (ce que les auteurs allemands appellent curieusement la « valeur d'une paire de raies ») diffère, en divers endroits, de la graduation, et se trouve lié à ce que les médecins appellent la « valeur interférométrique » d'un liquide (autrement dit le déplacement brute des franges) par une relation non linéaire.

Tous ces inconvénients proviennent surtout de l'instrument dont nous n'avons pas à faire ici la critique. Ils n'existent pas avec l'appareil décrit plus haut, puisque nous avons montré : la constance du zéro, et la relation linéaire reliant le nombre de divisions du tambour correspondant à un déplacement de 1 frange et les différentes divisions de la graduation. Ce dernier point permet comme nous l'avons vu, une correction facile (page 17).

En ce qui concerne l'influence de l'épaisseur de la cuve, on comprend d'après le schéma que les défauts liés à la construction dans les cuves de Lowe ou de celles de Lendel par exemple, ne peuvent intervenir dans le cas présent. L'épaisseur en question est en effet, égale à celle des lames internes dont la surface est absolument libre de tout contact. De fait il est facile de constater que la relation entre l'épaisseur et l'indice d'une solution quelconque est bien représentée par une ligne droite inclinée à 45°.

Partant des considérations précédentes, les différents expérimentateurs ont cru bon (et c'est en effet, indispensable) lorsque l'on ne veut pas employer la notation en indices de réfraction) de chercher un moyen d'amener leurs résultats à être comparables, malgré les variations propres à chaque appareil. L'entente fut longue et difficile à réaliser. Disons d'ailleurs que, si elle est actuellement faite au sujet de la méthode à employer avec l'appareil de Lowe, le résultat est très approximatif quant à la concordance en question. Il est curieux de constater que le calcul complet de l'indice de réfraction a toujours rebuté les biologistes qui, jusqu'à présent, et pour des raisons trop faciles à comprendre, ont toujours représenté leurs résultats au moyen de notations dérivées des indications fournies par les constructeurs allemands, les premiers dans cette voie chronologiquement. Cependant ce calcul se ramène à une simple multiplication qui vaut bien, on l'avouera, celle qu'exige l'emploi des « coefficients de correction » fantaisistes proposés par les constructeurs cités.

Le calcul de l'indice de réfraction est en définitive la seule méthode rigoureuse ayant une signification réelle. On doit former des vœux pour qu'elle se substi-

tue rapidement aux errements antérieurs, entretenus d'ailleurs d'une façon inexcusable mais trop intéressée, comme chacun sait.

Cependant il restera sûrement des opérateurs qui, pour une raison de simplicité apparente, ou dans le but plus louable de rendre utilisables les résultats obtenus antérieurement avec d'autres instruments auront besoin d'établir la correspondance entre les lectures faites avec le nouveau réfractomètre et celles obtenue avec celui de Haber Lowe par exemple. Dans ce cas, nous recommandons le procédé suivant qui, tout en conservant les avantages du nouvel appareil, réduit au minimum les inconvénients des autres instruments.

Comme l'a indiqué Guillaumin (55), il est possible de caractériser l'appareillage employé en indiquant le nombre de divisions du compensateur qui correspond à la déviation des franges produite par une solution de NaCl à 1 % (l'une des cuves étant remplie d'eau). Pour cet usage d'ailleurs, la solution de sulfate de zinc dont nous avons parlé convient mieux pour différentes raisons. Mais l'utilisation rationnelle de ces données pour établir la correspondance en question exige que l'on rapporte tous les résultats à ceux qui seraient obtenus avec un appareil standard théorique dont l'intervention est motivée par le fait que λ , l'épaisseur l des cuves, et le DT correspondant à 1 frange varient d'un appareil à l'autre et sans relation aucune. Ces trois grandeurs intervenant dans le calcul de l'indice, on conçoit qu'elle doivent aussi intervenir dans l'établissement de la correspondance des résultats exprimés en nombre de divisions, si l'on veut que les chiffres ainsi calculés conservent une signification et permettent encore le calcul éventuel des indices exactes.

Nous proposons de fixer arbitrairement les grandeurs suivantes pour cet instrument standard : $\lambda = 0,0005825$ (milieu du spectre) $l = 2$ $\lambda = 3$ (nombre de divisions correspondant à un déplacement de 1 frange), ces grandeurs étant voisines de celles fournies généralement par l'appareil construit par Jobin et Yvon (page 8).

Soit par exemple, un appareil pour lequel la λ dominante est λ' , l'épaisseur des cuves l' , le DT pour une frange y' , la solution de sulfate de zinc à 10% produisant un déplacement égale à DTzn . On trouve avec cet appareil un certain résultat correspondant par exemple, à DT divisions. Pour rapporter ce résultat à celui qui serait fourni par l'appareil standard ; ce qui permettra la comparaison avec les chiffres obtenus par un autre expérimentateur dans d'autres conditions, le raisonnement est le suivant :

L'indice relatif vrai (sauf corrections éventuelles portant directement sur le chiffre DT comme on l'a vu pages 17 et 18) est donné par :

$$dn = \frac{\lambda \text{ DT}}{y' l'} \quad (1)$$

Il doit être égale à celui calculable avec le chiffre DT' qui serait obtenu avec l'appareil standard pour lequel on aurait :

$$dn = \frac{0,0005825. \text{DT}'}{3,2} \quad (2)$$

En rapprochant (1) et (2) on tire DT' :

$$DT' = \frac{\lambda'. DT. 3.2}{y' . l' . 0,0005825} \quad (3)$$

Pour éviter de mesurer exactement λ' , l' et y' , on peut tenir compte que la mesure en présence de sulfate de zinc permet de calculer l' :

$$l' = \frac{\lambda'. DTzn}{y' . dnzn.} \quad (4)$$

$dnzn$ étant donné dans les tables (soit 1,3424 pour la solution à 10%). Cette grandeur transportée dans (3) donne :

$$DT = \frac{DT. 3. 2. dnzn}{0,0005825. DTzn.} \quad (5)$$

On suppose naturellement que pour l'appareil standard les corrections sont nulles par convention. On conçoit facilement que ce calcul permette la comparaison logique des résultats obtenus avec différents appareils, même lorsque les corrections ne sont pas possibles, et qu'il soit encore réservé de pouvoir calculer les indices avec une précision suffisante.

20. *Processus des mesures.* — Pour familiariser le lecteur voici le détail d'une opération complète.

Supposons qu'il s'agisse de la première mesure à effectuer avec un appareil neuf préalablement réglé (voir page 29). La manœuvre comprendra la suite des opérations suivantes, faites en lumière jaune pour laquelle $\lambda = 5825$.

1. Etalonnage du compensateur. L'une des cuves reçoit de l'eau distillée fraîche, l'autre est remplie de solution de sulfate de zinc de concentrations croissantes. Pour chacune de ces solutions, on note la division correspondante D du compensateur pour laquelle le spectre se trouve ramené entre ses repères, et aussi le nombre de divisions A' correspondant à un déplacement de 1 frange entière. La relation entre A' et D doit être une ligne droite inclinée à 45° si l'appareil est bien réglé.

S'il n'en est pas ainsi, modifier légèrement l'écartement angulaire des lames du compensateur (page 11). Si le résultat ne peut être atteint, conserver les chiffres et effectuer les corrections de la façon indiquée page 17. Une fois le résultat obtenu, il sera valable pour toutes les mesures, mais le réglage de l'appareil ne devra plus être modifié.

2. Etalonnage des franges. On fait coïncider la frange centrale avec les divisions 50 et 51 par exemple, du micromètre : l'interfrange égale donc 8 divisions. On lit le chiffre correspondant sur la graduation du compensateur, soit 50,25. On déplace le spectre de façon à faire coïncider la frange centrale avec les divisions 51 et 58 (déplacement de $1\frac{1}{2}$ frange), la lecture donne alors 51,48. D'après cela le nombre A de divisions correspondant à un déplacement de 1 frange pour $dn = 0$ est :

$$A = (51,48 - 50,24) . 2 = 2,24$$

Cette mesure sera faite une fois pour toutes.

3. Épaisseur de la cuve employée. Cette mesure comporte deux opérations :

a) Les deux compartiments sont remplis d'une solution de sulfate de zinc à 10% ; la frange centrale est amenée entre les divisions 50 et 54 : la lecture à ce moment donne : 50,27

b) Le compartiment inférieur vidé, séché et lavé est rempli avec la même solution amenée à la concentration de 5% après ajustement, la lecture donne : 10,27.

En appliquant la relation classique (1) l'épaisseur l de la cuve est :

$$l = \frac{0,0005825 \cdot 40}{2,24 \cdot 0,0052} = 2 \text{ mm.}$$

lorsque l'éclairage de l'appareil est obtenu dans les conditions précisées au paragraphe 2°.

Cette mesure sera faite une fois pour toutes. La valeur obtenue ne changera généralement pas par une réparation éventuelle de la cuve.

4. Détermination du zéro. Les deux cuves sont remplies d'eau. Les franges sont ajustées entre leurs repères et la lecture de la graduation donne à ce moment le zéro de l'appareil. Ce zéro est très fixe. Cependant il est bon de répéter cette mesure au début où à la fin de chaque série de détermination.

5. Correspondance avec les résultats donnés par d'autres appareils. L'une des cuves est remplie d'eau. L'autre reçoit une solution de sulfate de zinc à 10%. On note le nombre de divisions x nécessaires pour ramener les franges entre leurs repères. Pour rapporter un résultat expérimental correspondant par exemple à 140 divisions à la valeur x' qui aurait été obtenue avec l'instrument standard dont il a été parlé, on trouve :

$$x' = \frac{140 \cdot 3,2 \cdot 0,01417}{0,0005825 \cdot x}$$

Si l'on désire une précision plus grande, il faudra corriger le chiffre 140 en tenant compte de l'étalonnage du compensateur (page 17). Mais cette précaution, est généralement inutile et a peu de sens dans la comparaison entre les données fournies par des appareils ne permettant pas d'effectuer cette correction d'une façon simple et précise.

6. Mesure d'un indice. L'une des cuves est remplie d'eau, l'autre reçoit le liquide étudié. Les franges sont ramenées entre leurs repères. La graduation indique à ce moment par exemple le chiffre 174,35. L'épaisseur de la cuve a été trouvée de 2 mm. On a $\lambda = 5825$, et on a trouvé une frange = 3,25 divisions pour $dn = 0$ ou $x = 60,25$, et 3,35 pour $x = 180$. D'après cela, l'indice de réfraction n par rapport au vide est donné par :

$$n = 1,33303 + \frac{0,0005825 \cdot (174,35 - 60,25)}{2 \cdot (3,25 \cdot 0,10 \cdot (174,35 - 60,25))} = 1,342941.$$

où toutes les grandeurs sont connues préalablement sauf 174,35, et une partie de la formule étant calculable une fois pour toutes.

La valeur trouvée par ce calcul ne dépend ni de l'appareil ni de l'opérateur.

21. *L'interféromètre de Jobin et Yvon.* — Sur les principes que nous venons d'indiquer, nous avons fait construire par la maison Jobin et Yvon (1) un appareil spécialement adapté aux études biologiques, dont l'aspect est représenté sur la figure 3. Son fonctionnement est en tout point identique à celui de l'instrument précédent, et nous ne donnons ci-dessous que quelques indications complémentaires. La lampe, une ampoule d'automobile de 6/v. 3 a, est amovible et peut être remplacée par toute autre source. Le colimateur comporte une fente dont on peut régler la position par rapport à la lentille, ce qui permet d'obtenir très facilement le maximum de netteté des franges.

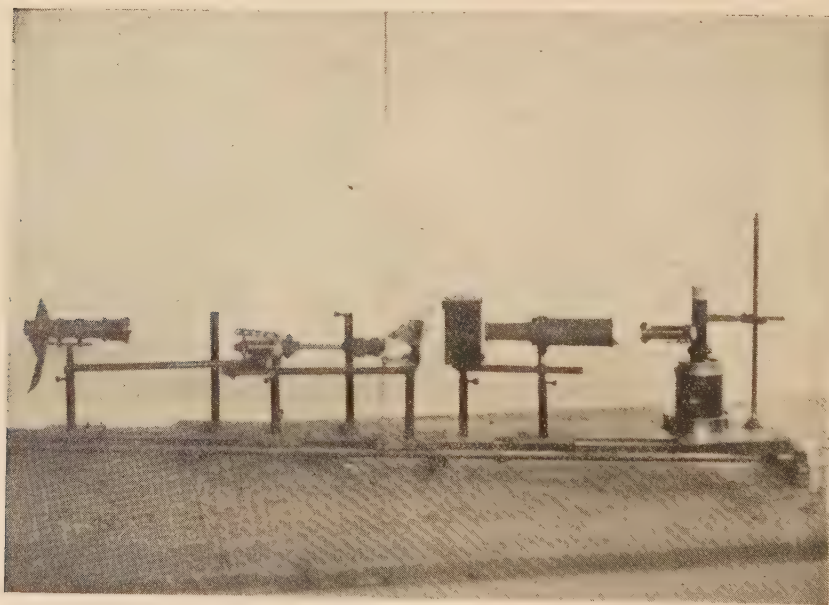


FIGURE 6

L'appareil comprend un jeu de cuves interchangeables dont les épaisseurs peuvent varier de 0,5 mm. à 6 mm. Le remplissage et le montage de ces cuves ne nécessite aucune précaution spéciale, leur mise en place étant assurée automatiquement. Ces cuves utilisent seulement 10 gouttes de liquide.

La lunette de visée comporte un objectif amovible de microscope dont le grossissement peut être choisi à volonté et un oculaire dont l'une des lentilles est rendue mobile au moyen d'une molette nickelée faisant corps avec le tube de l'appareil. Le micromètre est divisé en 50 parties, et le champ permet d'observer facilement une dizaine de franges. Au voisinage de cette lunette se trouve le bouton de commande du compensateur, et diamétralement opposé à celui-ci, une petite lunette accessoire munie d'une éclairage interne (4v. 0,3 a) destinée

(1) 27, rue Berthollet, Arcueil, Seine.

à la lecture de la graduation du compensateur : une division du vernier de cette graduation correspond à un déplacement de $1/100$ de frange.

Le réglage peut être effectué en quelques minutes par suite des opérations suivantes :

1. enlever l'objectif de la lunette ;
 2. placer la lampe de façon à éclairer uniformément le champ ; si les franges sont déjà visibles, chercher à obtenir une image aussi synétrique que possible en déplaçant latéralement la lampe.
 3. Desserrer le collier, le blocage du colimateur et déplacer celui-ci de façon obtenir de la lumière parallèle ; pour vérifier ce dernier point, déplacer dans le corps de l'instrument une petite règle divisée en millimètres, et s'assurer que l'écart entre les deux traits lumineux donnés par les fentes internes reste sensiblement constant sur toute la longueur de l'appareil. Quand ce réglage est obtenu, tirer la fente du colimateur de 1 à 2 mm. de façon à obtenir un certain degré de convergence donnant les meilleurs résultats. Vérifier à ce moment que la fente d'entrée est rigoureusement verticale (maximum de netteté et d'intensité des franges). Bloquer ensuite le collier du colimateur qui est alors indérégable.
 4. Replacer l'objectif.
 5. Déterminer par tâtonnement la meilleure position à donner à la lampe pour que les franges aient le maximum d'intensité.
 6. Achever le réglage : a) en agissant sur la partie moletée du tube de la lunette pour amener la frange achromatique à occuper une position définie entre deux divisions repères du micromètre ; b) en agissant sur le bouton inférieur de l'appareil pour faire coïncider à ce moment le zéro du vernier avec la division la plus voisine du tambour du compensateur.
-

CHAPITRE II

TECHNIQUE EXPÉRIMENTALE.

La sensibilité de l'instrument exige que l'on prenne quelques précautions au cours des manipulations.

Ces précautions se rapportent à plusieurs chefs : *a)* précautions d'aseptie ; *b)* choix des réactifs ; *c)* mesure des volumes des liquides.

Toutes sont également importantes, cependant nous allons être obligés de les développer inégalement. Pour ce qui concerne la mesure des volumes des réactifs employés, nous avons dû chercher un procédé qui donne des résultats rigoureusement constants et avec une très grande précision. Aussi allons-nous exposer en détail la technique à laquelle nous nous sommes arrêtés.

Pour la marche générale des opérations, la manipulation de la verrerie, la propreté nécessaire et l'aseptie indispensable, il sera bon de lire les prescriptions contenues dans le livre de Durupt (36) et la thèse de M. Bourdeau (6). Enfin pour les corrections générales des calculs de laboratoires nous ne pouvons faire mieux que de renvoyer au livre de Vigneron (148) dont les indications ont été rigoureusement suivies pour l'étalonnage de notre verrerie graduée. Nous ne donnerons donc dans ce qui suit que les précautions complémentaires qui nous semblent indispensables.

22. *Nettoyage des cuves.* — Les cuves de l'interféromètre doivent être tenues dans un état de propreté absolue. Aussitôt après chaque mesure, elles seront vidées, rincées sous un jet de pissette abondant ; essorées, puis essuyées soigneusement avec du papier joseph. On y versera successivement quelques gouttes d'alcool absolu (vérifier qu'il n'abandonne aucun précipité par évaporation), puis d'éther anhydre, en essuyant à chaque fois. Il faut se méfier que l'alcool et l'éther dissolvent souvent une quantité appréciable des sels du verre ; conserver ces produits dans des flacons neutres en verre dur (fiolax ou pyrex spécial).

La lame à faces parallèles fermant la cuve supérieure subira le même traitement.

Dans l'intervalle des mesures, les cuves nettoyées et leur support seront conservés sous une petite cloche les mettant à l'abri des poussières.

23. *Mesure des volumes.* — On peut se demander si la mesure des volumes des liquides employés ne peut éventuellement entraîner des erreurs supérieures aux corrections que nous avons précédemment envisagées.

Effectuons, à partir d'une solution mère de sulfate de zinc à 10% un certain nombre de fois la même dilution à 2,5% par exemple, la solution mère et l'eau étant toute deux mesurées avec des pipettes étalonnées, précises au cinquantième de cc., et déterminons ensuite les indices à la même température.

Voici le détail de six essais de cette sorte (tableau 3) :

On voit que cette façon de procéder peut entraîner une erreur de plus ou moins $5/20$ de frange, soit au total une demi-frange. Pour profiter de la sensibilité de l'instrument, il est donc nécessaire de mettre en œuvre un procédé plus précis.

Essai N°	Ecart avec la position initiale de l'essai N° I
1	0
2	$-6/20$
3	$5/20$
4	$2/20$
5	$-3/20$
6	$4/20$

TABLEAU 3

Nous nous sommes demandés si la numération des gouttes dans des conditions bien déterminées, ne donnerait pas une plus grande constance des volumes mesurés. Le volume d'une goutte de liquide, dépendant, pour une pipette donnée, de la densité et de la tension superficielle du liquide, on doit s'attendre à une assez bonne précision. Voici le processus auquel nous nous sommes arrêtés après quelques tâtonnements.

A chaque liquide est affecté une pipette d'environ 1 cc., dont la pointe soigneusement rodée, sur une meule très douce, est bien-perpendiculaire à l'axe. Ces pipettes doivent être rigoureusement propres (nettoyage après chaque usage, au mélange sulfo-chromique, eau, alcool). La mesure consiste à compter le nombre de gouttes qui s'écoule, la pipette étant tenue verticalement, en évitant de la chauffer avec la main, l'écoulement se faisant à la vitesse de une goutte par seconde (chronométré) pour que l'évaporation intervienne toujours à peu près de la même façon. Il faut de plus, avoir la précaution de n'utiliser que le liquide contenu dans la boule supérieure de la pipette, pour que la hauteur du liquide ne varie pas sensiblement au cours de la mesure.

L'expérience précédente répétée en mesurant les volumes de cette façon, donne les résultats suivants (tableau 4) :

Ce procédé se montre donc tout à fait légitime, et donne une précision de l'ordre de $1/20$ de frange, identique à la précision possible des lectures dans le cas de notre instrument, ce qui permet d'utiliser pleinement sa sensibilité. De plus la méthode est facilement applicable à de très petites quantités de liquide.

Essai N°	Ecart avec la position initiale de l'essai N°I.
I	0
2	-I
3	0
4	2
5	-I
6	I
7	I
8	I
9	0..../20 de fr.

TABLEAU 4 .

24. *Étalonnage des pipettes.* — Le volume correspondant au nombre de gouttes versées se calcule aisément après étalonnage des pipettes, mais il faut faire soigneusement toutes les corrections.

Cet étalonnage comporte la suite des opérations suivantes qui donnent une précision suffisante :

1. Pesée de 20 gouttes par exemple, du liquide à étudier, à l et p cm de pression, mesurées avec la pipette à étalonner.

2. Pesée de 1 cc. du même liquide, mesuré avec une pipette graduée de précision à l' et p' cm. Généralement $l = l'$ et $p = p'$, si l'on opère assez rapidement.

Ces pesées doivent être faites à 1/5 de mmg. près. Le rapport : poids de 20 gouttes/poids de 1 cc. donne le volume de ces 20 gouttes à la même température. Mais avant tout calcul, il est nécessaire d'effectuer les corrections.

Corrections à effectuer. Bien que ces corrections doivent être connues, nous croyons bon de les rappeler. Elles sont de deux sortes.

1) Corrections aux pesées. La correction la plus importante est celle de poussée

de l'air : les poids doivent être rapportés au vide. Pour des liquides dont la densité est voisine de 1, le poids dans le vide s'obtient par le calcul suivant :

$$P. \text{ vide} = P. \text{ air} + \frac{KP. \text{ air}}{1000}$$

expression dans laquelle $K = 1,06$ pour des poids en laiton, et en atmosphère moyennement humide.

Cette relation approchée se montre suffisante dans la pratique. Les variations de K avec la densité sont données dans les tables. Les autres corrections sont négligeables.

2) Corrections aux volumes. La plus importante est celle de température qui devra toujours être faite. Pour que les expériences soient rigoureusement comparables entre elles, il est bon de rapporter tous les chiffres à une température de référence. Pour cela, il suffit de connaître le coefficient de dilatation des liquides étudiés qui, s'ils ne peuvent être trouvés dans les tables, se déduisent aisément de deux mesures du poids spécifique à deux températures différentes (et compte tenu de la dilatation de l'eau elle-même). La correction de dilatation du verre des appareils est généralement négligeable à côté des autres causes d'erreur inévitables. Enfin, il sera bon de vérifier de temps à autre l'étalonnage des pipettes.

Connaissant le volume (corrigé) de 20 gouttes de liquide, il est facile de calculer le volume équivalent à une température de référence de 15° par exemple. Soit a le coefficient de dilatation du liquide considéré. Le volume V à 15° correspondant à y gouttes versées à 18° , par exemple est :

$$V_{15} = \frac{V_{18}}{1 + a(18-15)}$$

Si à 20 gouttes correspondent Acc à 15° (chiffre obtenu au cours de l'étalonnage) le volume correspondant à y gouttes à 15° est égale à : $A_{15}. y/20$, et l'on a :

$$A_{15}. y/20 = \frac{V_{18}}{1 + a(18-15)}$$

d'où l'on tire dans le cas général :

$$V_{18} = A_{15}. (1 + a(dt)). y/20 \quad (11)$$

Nous donnons dans le tableau 5 quelques-unes des valeurs du coefficient « a » pour certains liquides utilisés en biologie. Pour les autres solutions employées dans notre travail, et pour le sérum sanguin, on ne commettra pas une grosse erreur en prenant « a » identique à celui d'une solution saline à 1% soit : 0,00105.

Enfin pour des mesures de haute précision, et surtout si le dt est important, l'expression $1 + adt$ sera remplacée par la formule complète :

$$V_t = V_o (1 + at + bt^2 + ct^3 \dots).$$

Solutions	α , d'après Bary
Ac. sulfurique N/I	0,0004
N/10	0,0007
N/50	0,00103
Soude N/I	0,0006
eau distillée	0,00110
glucose à 1/1000	0,00110
alcool éthylique à 95°	0,00104
à 48°	0,00104
Sérums, valeur très approchées:	0,00105

TABLEAU 5 .

Voici dans le tableau 6 le résultat de l'étalonnage de nos pipettes :

Liquides	P.20g. air	P.100. air	T°	VI5.
eau	0,877	1,000	18	0,876
SO ₄ H ₂ N/I	1,097	1,043	21	1,048
N/10	1,152	1,016	21	1,010
N/50	1,107	1,008	18	1,098
NaOH N/10	1,036	1,056	21	0,978
glucose 1/10000	0,702	1,000	18	0,701
alcool 95°	0,470	0,812	18	0,560
48°	0,478	0,938	18	0,550
Sérums	0,673	1,040	20	0,598

TABLEAU 6 .

25. *Précaution d'aseptie.* -- Si l'on doit effectuer des mesures un peu longues sur des liquides fermentescibles, il faut absolument éviter la prolifération des micro-organismes au cours du travail.

Les détails techniques à respecter sont exposés dans un grand nombre d'ouvrages et nous ne saurions insister. Cependant, la plupart des auteurs qui se sont intéressés à l'interférométrie recommandent une antiseptie par addition de vusine. Nous ne saurions dire si cette substance peut avoir une influence quelconque sur les grandeurs étudiées. Mais, à notre avis, et pour éviter toute controverse, il vaut mieux se passer de toute substance supplémentaire et opérer dans de la verrerie stérile, ce qui n'est guère plus difficile. Pour notre compte, nous nous sommes toujours très bien trouvé de cette manière de faire, complétée par le maintient ; entre les mesures, des liquides fermentescibles à la glacière à -1 ou -2°.

DEUXIÈME PARTIE

RÉFRACTOMETRIE DU SERUM SANGUIN

CHAPITRE PREMIER

ETUDE REFRACTOMÉTRIQUE DU SERUM PUR

Le sérum de l'homme et des animaux domestiques a fait l'objet d'un grand nombre de mesures d'indice de réfraction, exécutées pour la plupart avec des réfractomètres de précision bien inférieure à celle de l'interféromètre.

26. *Chiffres normaux.* — Il est admis que le sérum sanguin de l'homme a un indice normalement compris entre 1,349 et 1,352, et que ses variations se trouvent surtout liées aux variations de la concentration en albumine, mais ce dernier point est sujet à caution, comme nous le verrons page .

Nous donnons dans le tableau n° 7 une série de mesures effectuées sur des sérums de sujets cliniquement normaux.

Sujets	Indices	Température;
1	1,349360	20°
2	1,349783	19
3	1,351320	22
4	1,350060	22
5	1,350790	19
6	1,349860	19
7	1,349750	18
8	1,349984	20
moyenne :	1,350199	

TABEAU 7 .

Dans ce tableau, les chiffres marqués d'un . sont relatifs à des sérums de donneurs de sang. Pour toutes ces mesures, le sang a été prélevé aseptiquement, et

après coagulation, le sérum séparé aussi rapidement que possible par centrifugation, conservé à la glacière à -2 ou -3 degrés, et examiné 12 à 24 heures après ces opérations.

Chez les oiseaux, en collaboration avec M. R. Louvier, nous avons trouvé les résultats contenus dans le tableau n°8.

Sujets	Dates	Indices	Température.
Coq Bresse	27/3/36	I,348230	21°
1 ^{er} même	9/4/36	I,346390	19
Coq Leghorn	8/4/36	I,345530	19
Chapon id.	1/4/36	I,347980	20
1 ^{er} même	9/4/36	I,346130	19
Chapon Bresse	8/4/36	I,345460	19

TABLEAU 8 .

Nous rapportons ces dernières mesures simplement à titre documentaire, car elles sont trop peu nombreuses pour autoriser des conclusions quelconques (1). Il faut rapprocher ces chiffres des mesures de A. Tapernoux, Pagnon et Vuillaume (135) qui indiquent comme chiffres moyens pour le sérum de cheval : 1,34801 et 1,34900, avec des valeurs extrêmes de 1,34537 et 1,35169, des variations pour le même animal pouvant atteindre 0,00345 au plus, et une diminution progressive avec le nombre de saignées successives. (Mesures au réfractomètre). Ces indications nous serviront plus loin.

27. *Indice de réfraction des sérums pathologiques.* — Nous avons eu l'occasion de faire également quelques mesures sur des sérums pathologiques (tableau n°9). Il semble que dans certains cas cette mesure puisse donner des indications intéressantes, surtout si l'on a soin de la doubler du dosage des albumines.

On voit par exemple, que le deuxième cas de cirrhose était accompagné d'œdème des membres : nous trouvons un indice particulièrement bas à rapprocher de celui du troisième cas : la mort a d'ailleurs suivi de près la date de l'examen, tandis que les deux autres cas de cirrhose résistent encore à leur maladie. Il y a peut-être là matière à des recherches intéressantes mais qui ne sont pas de notre ressort, et de toute façon ces mesures rapportées ici à titre documentaire sont trop peu nombreuses pour autoriser une conclusion quelconque.

(1) Signalons également les chiffres de 1,35 703 et s. 33.984 recueillis par G. Viale (143) sur le sérum de chien.

Sujets	Indices	Température
Salpingite	I,349936	20°
Fibrome utérin	I,349950	20
oedème	I,347880	18
cirrhose	I,350976	21
id. avec oedème	I,346820	20
néphrite chron.	I,351556	19
Cirrhose	I,349520	21
furunculose	I,350780	19

TABLEAU 9 .

Ajoutons cependant que des variations caractéristiques ont été relevées dans d'autres cas. Ségale (cité par Kopaczewski : 74, a signalé par exemple, une augmentation dans le choc anaphylactique, bien que d'après Polonowski, Gernez et Driessens (121), les polypeptides sanguins ne varient pas dans ces conditions. Ceci laisse supposer incidemment que les variations d'indice ne sont pas forcément liées aux fluctuations de la composition protéique du sang. Pour J. Thomas (137), sa mesure aurait une certaine valeur pronostique : « toutes choses égales d'ailleurs, un indice de réfraction abaissé au-dessous de la normale correspondant à une hypoalbumose sanguine, et il est toujours caractéristique d'une nutrition défectueuse ou d'une défense organique amoindrie ».

Causes de variations. Les causes de variation de l'indice de réfraction sont loin d'être connues dans tous les cas. A la suite des travaux de Reiss on a admis, avec trop de facilité semble-t-il, que le principal facteur dépendait de la concentration en albumine : l'évaluation approchée des albumines sériques à partir de mesures réfractométriques a été employée par M. Brocq-Roussen (20 pour apprécier l'influence de saignées successives sur la composition du sérum de cheval (baisse progressive de l'indice avec le nombre de saignées).

Mais il ne semble pas que le choix de cette méthode soit judicieux, ainsi qu'il ressort des recherches de Ch.-O. Guillaumin, Wahl et M^{lle} Laurencin 55. Dans certains cas d'ailleurs, notamment pendant la photolyse des solutions de gélatine par les rayons ultra-violets, étudiée par P. Ponthus (102, il y a sûrement variation des albumines sans changement corrélatif de l'indice (mais ces mesures ont été faites avec un réfractomètre).

Nous verrons plus loin (page 73), que des traces de sels peuvent avoir une influence considérable sur l'indice, dans certaines conditions.

Une ignorance semblable existe en ce qui concerne le comportement de beaucoup de protéines. C'est ainsi que C. Siebenmann (131) a trouvé que l'adjonction à une globuline de cheval des antitoxines diphtérique, tétanique de scarlatine, et d'érysipèle, ne modifiait aucunement l'indice de réfraction. Cependant, nous pensons que beaucoup de conclusions de ce genre seront réformées dans un avenir proche, par des mesures effectuées avec plus de précision. C'est ainsi que des expériences encore inédites de F. Zuckerlandl effectuées avec notre appareil ont montré qu'il était possible, entre des limites étroites de concentration, de mettre en évidence l'action d'une antitoxine ou d'un autre sérum, sur un sérum humain. Ces faits semblent confirmer ce que nous avons avancé relativement à l'influence de la précision des mesures sur les théories biologiques.

27. *Influence de la concentration en sérum.* — La réfractométrie des protéines semble pouvoir donner quelques indications sur les modifications de leur structure sous l'influence des facteurs expérimentaux.

Déjà l'étude réfractométrique des solutions d'ovalbumine dénaturées par la chaleur, entreprise par D.-B. Hand (59) a montré à H. Barker (7) que la chaleur en milieu basique semble modifier la structure de la molécule protéique elle-même, résultat qui serait à rapprocher de ceux obtenus par Lecomte du Noüy dont nous reparlerons plus loin (page 59).

Mais si les études sur les corps nettement définis comme l'ovalbumine permettent d'avoir quelques présomptions sur le comportement du sérum sanguin qui s'en rapproche par certains côtés, il faut être extrêmement prudent et ne pas transposer d'emblée tous les résultats à ce dernier liquide. Les recherches faites sur les constituants isolés sont certes, utiles, mais il ne faut pas oublier que ces corps, une fois mis en présence les uns des autres, acquièrent des propriétés nouvelles pour des raisons qui ne sont pas encore élucidées. On sait par exemple, que toutes les protéines sériques possèdent des points isoélectriques très inférieur à celui du sérum complet (consulter à ce sujet, l'article de Bigwood : 9). Quelques-unes des protéines sériques ont pu être séparées par A. Groenwald (54) au moyen de la cataphorèse : ces fractions ont des propriétés différentes et, d'après Eskil Kylin (84) des pouvoirs de fixation différents pour les colorants. Le poids moléculaire des globulines a été déterminé par A. Adair (1), il serait de 175.000 ; pour Svedberg et Sjogren de 103.000 (134) ; et pour J. Roche et Braco de 103.000 (127), dans le cas du sérum humain ; ces molécules sont donc énormes. Les albumines et sérines sont moins grosses.

La complexité du sérum ressort encore des expériences de M. Farlane qui, au moyen de l'ultracentrifugation, a mis en évidence que l'état de dispersion des globulines et albumines du sérum est très différent de celui de ces corps isolés, bien que leurs solutions puissent être amenées à un état analogue par une concentration suffisante (42).

Pour cet auteur on trouverait des particules d'au moins trois tailles différentes, dont les proportions varieraient au cours de la dilution (43). On rencontre donc ici un phénomène lié à la concentration en sérum, et nous aurons l'occasion de revenir sur son importance.

En présence d'une telle complexité et d'une telle fragilité des molécules constituant du sérum, il n'est pas étonnant de constater que leurs propriétés puissent se modifier lorsqu'elles sont mises en présence les unes des autres, surtout si un simple changement de concentration peut modifier la composition de l'ensemble.

Les modifications de la composition protéique du sérum au cours de la dilution ont aussi été observées par E.-B. Verney (144), E.-B. Mayers (104, en 1926 ; Fishberg (46, au moyen de mesures de la pression colloïde-osmotique, a pu faire des constatations analogues : cette grandeur décroît plus vite que la concentration en sérum, signifiant une baisse de la C^o des albumines ; ce fait a été complété par le dosage directs des globulines par P. Cambier (25 qui, en 1929 constata leur diminution par dilution du sérum.

Il est intéressant d'après cela, de voir avec précision comment varie l'indice du sérum par dilution progressive.

Déjà Chanoz et Ponthus ont vu (20 que l'indice augmente régulièrement par concentration dans le vide (mesures au réfractomètre). D'autre part, d'après les mêmes auteurs, la dilution provoque des précipitations successives de globulines variées ; par dilution l'indice du sérum ne doit donc pas, *a priori*, varier d'une façon simple.

Nous avons effectué un certain nombre d'expériences sur différents échantillon de sérums dilués progressivement avec de l'eau distillée récemment (dans un serpentin en étain pur). Voici le détail de quelques-unes d'entre elles, toutes corrections faites, les mesures ayant été exécutées en prenant toutes les précautions dont nous avons parlé.

SÉRUM DE CHEVAL N° I. — Expérience à 18°

Concentrations	Indices	::	Concentrations	Indices
2,69%	I,333240	::	30,62	I,336210
5,49	I,333510	::	34,85	I,336540
8,28	I,333720	::	38,68	I,336940
11,20	I,333990	::	42,49	I,337410
14,21	I,334350	::	46,48	I,337860
17,29	I,334740	::	50,56	I,338310
20,49	I,335130	::	54,81	I,338760
23,77	I,335550	::	59,19	I,339070
27,90	I,335940	::		

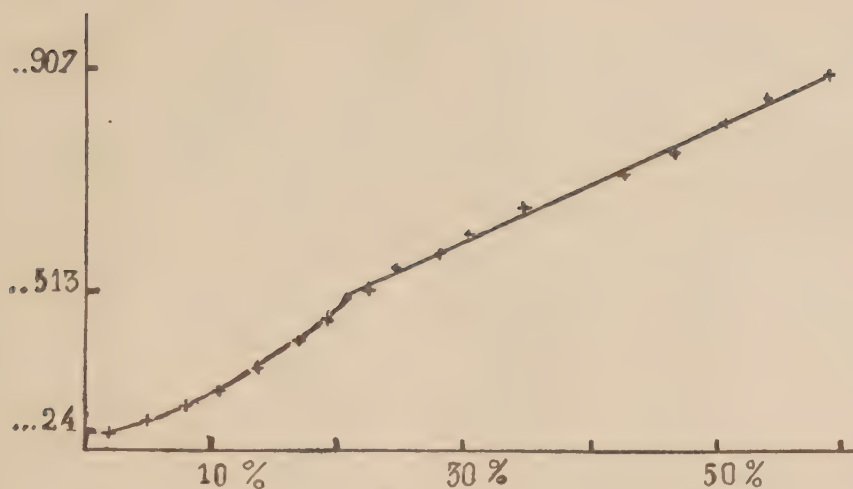


FIGURE 7

SERUM DE CHEVAL N° II. — Expérience à 18°.

Concentrations	indices	::	Concentrations	indices
2,68%	I,33326	::	30,50	I,33619
5,50	I,33354	::	38,70	I,33697
8,30	I,33375	::	46,50	I,33790
11,34	I,33404	::	54,80	I,33877
17,31	I,33477	::	59,21	I,33913
23,80	I,33558	::		

TABEAU II .

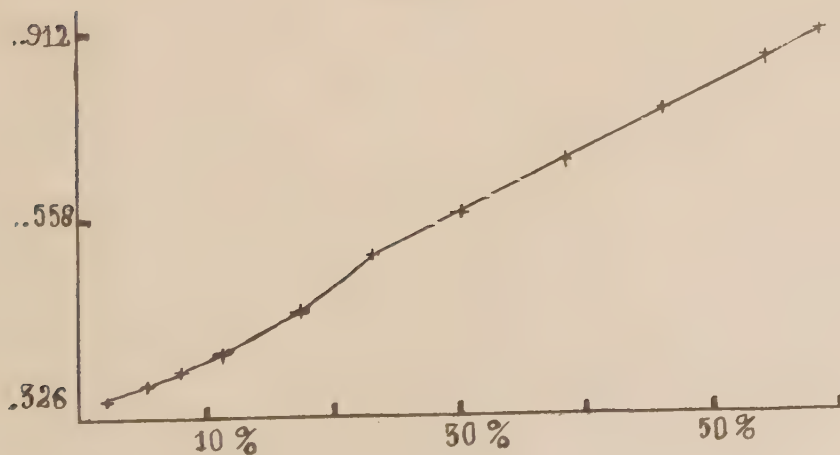


FIGURE 8

Trois autres échantillons de sérum de la même provenance nous ont donné des résultats exactement comparables.

A propos de ces expériences, nous devons insister sur la nécessité qu'il y a d'opérer sur des sérums absolument frais. Si les examens ne peuvent être faits le jour même du prélèvement, les sérums doivent obligatoirement être conservés aseptiquement en ampoules scellées et maintenus, pour plus de sûreté, à la glacière à -2 ou -3 degrés.

C'est ainsi que le sérum précédent (cheval n° 11) ayant été manipulé aseptiquement, le surplus fut conservé à la glacière dans son ampoule fermée avec un bouchon de liège et maintenu 48 heures : les résultats obtenus alors sont très différents de ceux que nous venons de voir (tableau n° 12).

Expérience à 17°.

Concentrations	Indices
40%	I,33334
43	I,33360
47	I,33462
50	I,33510
53	I,33561
57	I,33612
62	I,33741
66	I,33789

TABLEAU 12 .

Nous avons refait souvent cette dernière expérience et jamais nous n'avons obtenus de chiffres ayant une signification quelconque dans ces conditions. Aussi ne rapporterons nous pas de plus nombreux exemples, les chiffres mentionnés dans ce travail étant tous relatifs à des sérums frais ou conservés dans les conditions que nous venons d'indiquer.

Quelques résultats complémentaires sur l'influence de la dilution obtenus avec deux sérums de lapins sont donnés dans les tableaux n°s 13 et 14.

SÉRUM DE LAPIN N° I. — Expérience à 17°.

Concentrations	Indices	::	Concentrations	Indices
0,67%	I,33309	::	20,48	I,33621
0,89	I,33314	::	27,90	I,33708
1,67	I,33318	::	30,62	I,33756
2,68	I,33332	::	34,85	I,33822
5,44	I,33355	::	42,49	I,33906
8,28	I,33411	::	50,56	I,34005
14,20	I,33471	::		

TABLEAU 13 .

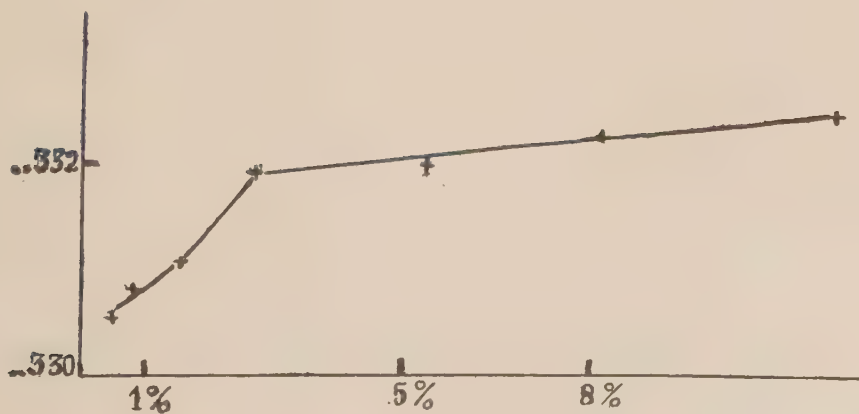


FIGURE 9

SÉRUM DE LAPIN N° II. — Expérience à 18°.

Concentrations	Indices
0,88	1,33313
1,60	1,33318
2,70	1,33331
5,48	1,33358
8,30	1,33415
15,00	1,33471
20,20	1,33620
28,03	1,33709
30,50	1,33750
51,00	1,33997

TABLEAU 14 .

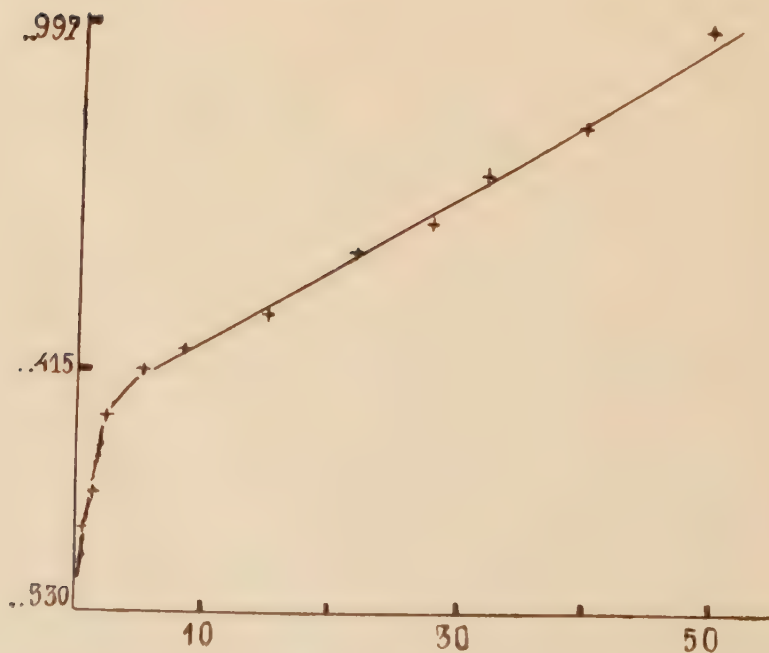


FIGURE 10

Dans le cas du sérum humain, nous avons effectué des mesures sur 8 échantillons provenant de sujets en bonne santé apparente. Les résultats rapportés dans une précédente communication (69) sont conformes à ce qui vient d'être dit.

On voit sur les graphiques correspondants à ces expériences (fig. 7, 8, 9, 10) que l'indice du sérum varie d'une façon linéaire pour des concentrations comprise entre 20% environ et 100%, aussi bien pour le sérum de cheval que pour celui de lapin et d'homme. Pour des concentrations inférieures à 20% il semble que, dans le cas du sérum de cheval, la droite s'incurve vers les abscisses, indiquant une modification physico-chimique provoquée par la dilution. Dans le cas du sérum de lapin également, au-dessous d'une certaine concentration assez faible, la représentation n'est plus linéaire. Les sérums humains dont nous disposions n'étaient pas assez abondants pour nous permettre d'explorer toute l'échelle des concentrations, mais il est probable que le phénomène s'y présente aussi d'une façon analogue.

Remarquons que très fréquemment au voisinage de 20% ou pour des concentrations un peu supérieures on observe, surtout dans le sérum humain, un léger trouble qui n'existe ni aux grandes dilutions ni aux fortes concentrations, et qui correspond sans doute aux floculats de globulines signalés par les auteurs précités (27).

L'existence d'une zone d'instabilité a d'ailleurs été observée par Boutaric et Doladille (19) voyant que le produit de la densité optique par le rang de la dilution passe par un maximum situé à peu près au voisinage de cette même concentration. Le même fait a aussi été signalé par Lecomte du Nouy.

Naturellement, il est généralement impossible d'explorer sur un même échantillon toute l'échelle des concentrations avec un nombre suffisant de points, étant donné la difficulté qu'il y a d'avoir des quantités suffisantes de sérum. D'autre part, nous n'avons pas voulu effectuer cette recherche sur des mélanges de sérum même provenant d'un seul sujet, ce qui évidemment, nous aurait procuré des quantités plus importantes de liquide. Mais nous avons pensé que le produit d'un mélange de sérums quels qu'ils soient, peut avoir des propriétés différentes de ses constituants, ainsi que nous l'avons fait pressentir (page 46). De fait, des mesures récentes de Zuckerkandl, effectuées avec un appareil construit par Jobin et Yvon, ont mis en évidence des variations d'indice de réfraction assez importantes, par mélanges de fractions de sérum homologues ou hétérologues ne se floculant pas normalement (150).

Le comportement de l'indice du sérum en présence de l'eau est remarquable. Dans la plupart des cas, sauf pour les électrolytes, l'indice dn est relié à la concentration dc par une relation très approchée de la forme : $dn/dc = A/(Kc + 1)$ où c est la concentration en gr. dans 1000 gr. de solvant. D'après cela on devrait s'attendre à trouver une relation linéaire pour de faibles concentrations (Kc petit devant 1), ainsi que nous l'a fait remarquer M. Vlès. Or, c'est justement aux fortes concentrations que le phénomène se produit. On peut en déduire que l'eau provoque dans le sérum une profonde modification de la structure physico-chimique proportionnelle à sa concentration.

Cette conclusion est en accord avec les expériences de von Mutzenbecher (107) qui, par des mesures interférométriques dans un champ d'ultracentrifugation, a constaté que la dilution provoquait une dissociation des molécules du sérum en fragments ayant des vitesses de sédimentation différentes, le même résultat pouvant d'ailleurs être obtenu par addition de sulfate d'ammoniaque. Ces déductions sont également en accord avec celles de Mc. Farlane déjà rapportées.

Nous avons essayé de caractériser les sérums par l'allure de la variation de leur indice de réfraction en fonction de leur concentration, dans la partie droite du graphique, la dilution étant faite avec de l'eau distillée.

Nous avons surtout opéré dans les limites où cette variation est linéaire, et plus spécialement aux fortes concentrations en sérum, pour lesquelles *a priori*, la dilution doit entraîner le minimum de perturbation dans l'équilibre physico-chimique du liquide.

Pour éviter la multiplication des graphiques, nous donnons pour quelques sujets cliniquement normaux la différence entre l'indice du sérum pur et celui du sérum à la concentration 83% 8, mesurés à la même température, et toute corrections faites (tableau n° 15).

Sujets	Différence des indices
1	0,002983
2	0,003486
3	0,003840
4	0,003378
5	0,001670
6	0,002830
7	0,002939
8	0,003380
9	0,003451

TABLEAU 15 .

On voit qu'il existe des divergences très marquées entre ces sérums et que cette façon de procéder ne donne pas des résultats très caractéristiques.

Nous avons cependant tenté par ce procédé un certain nombre de déterminations, dans des sérums pathologiques, pensant être plus heureux dans cette voie. Voici le détail de ces mesures, toujours pour la même C^o.

Sujets	Différence des indices	T°.
Néphrite chron.	0,003616	20°
oedème	0,000980	18
fibrome utér.	0,002087	20
salpingite	0,002114	20
id	0,002136	20
diabète sucré	0,003140	20
id	0,002820	20
furunculose	0,002100	19
id	0,002067	20
tubér. pulm.	0,002879	21
cirrhose	0,004856	21
id. avec oedème	0,001500	20

TABLEAU 16

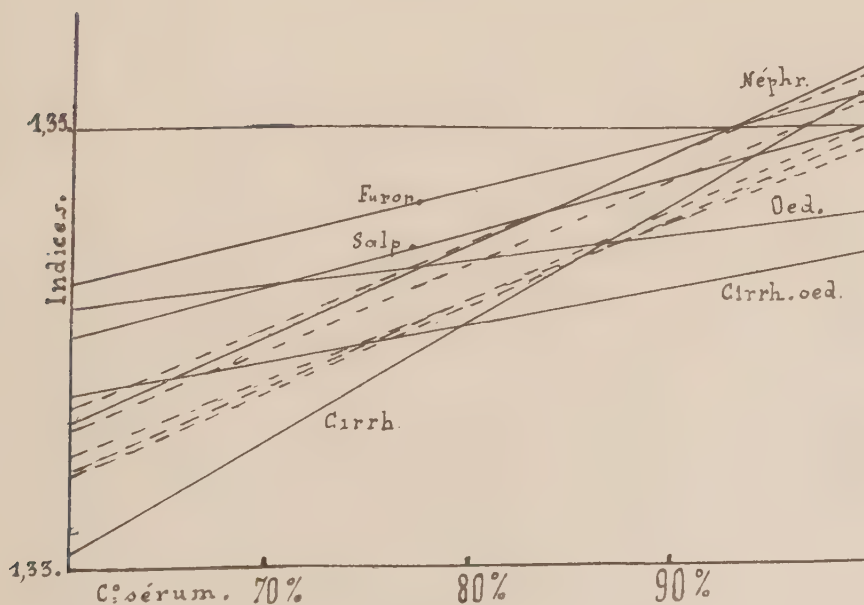


FIGURE 11

De la comparaison de ces chiffres avec ceux du tableau n° 15, il est seulement possible de retenir que dans les quatre cas de maladies infectieuses (2 salpingites et 2 furonculoses) l'indice de réfraction du sérum est normal, tandis que sa variation sous l'influence de la dilution avec de l'eau distillée est plus lente (différence d'indice faible). En présence d'œdème, la pente graphique est aussi très faible. Les autres chiffres ne montrent rien de caractéristique (fig. 11).

Il serait intéressant d'effectuer de semblables recherches sur de plus nombreux cas, en explorant pour chacun d'eux toute l'échelle des concentrations avec un nombre de points aussi grand que possible : ce travail réserverait certainement des surprises, mais il sort du cadre que nous nous sommes fixé. De nos premières mesures il semble se dégager en effet que DES SÉRUMS QUI DONNENT DES CHIFFRES IDENTIQUES LORSQU'ILS NE SONT PAS DILUÉS, PEUVENT SE CARACTÉRISER NETTEMENT AUX FAIBLES CONCENTRATIONS.

CHAPITRE II

RÉFRACTION ET STRUCTURE PHYSICO-CHIMIQUE DES SÉRUMS SANGUINS

Nous avons vu page 39 qu'aux basses concentrations, la variation de l'indice de réfraction du sérum change d'allure et suit une courbe faiblement incurvée vers l'axe des abscisses, ce qui semble indiquer une modification progressive de sa structure physico-chimique.

Les expériences précédentes suggèrent immédiatement que la dilution peut, pour des concentrations inférieures à 20-25%, produire des effets très différents dans des sérums ayant primitivement des indices de réfraction très voisins lorsqu'ils ne sont pas dilués. En d'autres termes, des sérums qui, purs ont le même indice, peuvent avoir en réalité, des structures physico-chimique très différentes. Allant plus loin, il est peut-être même possible de penser que la pente des droites du graphique n° 11 doit avoir des relations très étroites avec cette structure physico-chimique. Cette constatation entraîne encore une autre conséquence. Les droites représentatives de la variation de l'indice ne convergeant pas vers le point d'indice égal à celui du solvant pur, si l'on ajoute à ces sérums une substance quelconque, même non susceptible de se combiner avec leurs constituants, l'indice du mélange en résultant ne peut-être calculé par les méthodes habituelles.

Cette dernière déduction nous a semblé intéressante, et nous avons essayé de préciser ce qui se passe dans ces conditions, lorsque l'on ajoute de très faibles quantités de substances étrangères, telles que des sucres et certains électrolytes, au sérum. Voyons tout d'abord ce qu'il est possible de prévoir.

29. *Indice de refraction des mélanges gazeux et liquides.* — Nous croyons être utiles en rappelant les quelques notions classiques suivantes.

Dans le cas des gaz, l'indice n d'un mélange est égale à la somme des indices $n_1, n_2 \dots$ etc. des composants chacun d'eux étant considéré à la pression pareille qu'il a dans le mélange : $x_1, x_2 \dots$ etc. et l'on a :

$$100 (n-1) = (n_1-1)x + (n_2-1)x_2 + \dots \text{ etc.} \quad (12)$$

Une relation assez analogue peut se rencontrer dans le cas de certains mélanges liquides. Soit deux solutions renfermant A molécules du corps A et B molécules du corps B , les indices étant respectivement en solution n_1 et n_2 . Plaçons dans l'une des cuves de l'interféromètre, l étant l'épaisseur de la couche liquide examinée, des volumes égaux de ces solutions : chacune d'elle se trouve diluée à $1/2$ de sa concentration initiale. Le chemin optique total : $l (n-1)$ est égal à la somme des chemins parcourus par la lumière dans chacune des molécules se trouvant sur son trajet (les indices étant rapportés à la vitesse de la lumière dans le vide). On a donc :

$$l (n-1) = l (n_1-1) \frac{a'}{2} + l (n_2-1) \frac{b'}{2}$$

où a' et b' sont des nombres proportionnels à : A et B. Cette équation devient :

$$l(n-1) = l \left(\frac{(n1-1)a' + (n2-1)b'}{2} \right)$$

d'où l'on tire facilement :

$$n-1 = \frac{(n1-1) a' + (n2-1) b'}{2} \quad (13)$$

De même dans le cas où le mélange comprend x parties de solution A, et y parties de la solution B, et si les mesures sont faites par comparaison avec l'eau distillée (d'indice 1,3330) contenue dans l'autre cuve de l'appareil, la relation (13) devient :

$$n-1, 3330 = \frac{(n1-1,3330) a'x}{x + y} + \frac{(n2-1,3330) b'y}{x + y} \quad (14)$$

Si l'on remarque que les quantités $a'x$ et $b'y$ représentent les concentrations des deux corps considérés dans le mélange, on peut donc écrire plus simplement que l'indice relatif $n-1, 3330$ du mélange est égal à la somme des indices de chacun des constituants considérés chacun avec sa concentration réalisée dans ce mélange. Cette relation (14) n'est d'ailleurs pas absolument rigoureuse (3) mais suffisamment approchée dans beaucoup de cas.

Prenons un exemple : on mélange 1 partie d'une solution de KCl à 3%, pour laquelle on a trouvé un indice représenté par $n-1, 3330 = k.20,2 \text{ (1)}$, avec 2 parties d'une solution à 5% environ de $\text{CO}^3 \text{ Na}^2 \text{ (2)}$ pour laquelle on a trouvé : $n-1, 3330 = k.34,4 \text{ (1)}$. L'indice du mélange est théoriquement, d'après ce que nous avons dit :

$$\frac{n-1,3330}{k} = \frac{k(20,2)1}{1+2} + \frac{k.34,4.2}{2+1} = k.29,66 \quad (1)$$

tandis que le chiffre trouvé expérimentalement est 29,40 le mélange étant placé dans l'une des cuves de l'interféromètre, l'autre étant remplie d'eau distillée.

L'erreur est de 1,3%, donc inférieure ou de l'ordre de grandeur de celle que l'on peut faire sur la mesure des volumes des liquides avec des pipettes ordinaires non étalonnées, et sans corrections de température et de pression. Nous constatons une fois de plus, à ce propos, la nécessité d'employer une méthode plus fine pour la mesure des volumes des liquides (voir page 30).

Remarquons encore que, dans le mélange, chacun des constituants peut être considéré comme ayant un indice n' qui, dans le cas présent est par exemple :

$$l(n'-1, 3330) = \frac{l(n1-1, 3330) x}{x + y} \quad (15)$$

Cette relation nous servira ultérieurement.

(1) Les chiffres 20,2 — 34,4 — 29,4 — sont les valeurs directement lues sur la graduation de l'appareil, et k est un facteur dépendant de l'instrument employé (voir ce que nous avons dit à ce propos, page 30).

(2) Voir note de la page (51).

(3) Voir page (45).

La relation précédente n'est d'ailleurs pas générale, et en particulier, dans le cas de la plupart des électrolytes, elle ne s'applique à peu près que pour des solutions très diluées, pour lesquelles l'indice de réfraction est lié à la concentration par une relation linéaire.

On trouvera dans les formulaires de chimie des tableaux donnant la variation de l'indice de quelques solutions en fonction de leur concentration.

On verra que pour quelques corps cette variation n'est pas linéaire pour les solutions concentrées. C'est le cas des acides sulfuriques et oxalique.

De même si le mélange entraîne une variation de volume (cas de l'alcool éthylique) la relation précédente ne s'applique plus.

Il est possible de trouver une formule plus générale, mais dans le cas des électrolytes, pour être rigoureux il faut faire intervenir les notions « d'équivalent réfractométrique de sel dissous », dont la discussion nous entraînerait trop loin. Dans l'exemple précédent, le résultat calculé est exact, parce que l'on a eu soin de choisir convenablement les proportions des corps envisagés, mais ce calcul ne peut s'appliquer pour n'importe quelle concentration. Cependant il est suffisant pour beaucoup de liquides biologiques.

On peut parfois tenter d'opérer d'une autre façon. Au lieu de calculer l'indice de chaque constituant considéré à la concentration qu'il a dans le mélange, on peut songer à tenir compte de l'indice que réellement il aurait à cette concentration s'il était simplement dilué avec le solvant commun, grandeur souvent donnée dans les tables, et qui toujours peut être déterminée par une expérience préalable. Cette façon de procéder, que nous avons pu employer dans certaines conditions, avec le sérum sanguin, devra également être sévèrement critiquée avant d'être adoptée ; ce procédé est encore très empirique, mais il a souvent l'avantage de donner des résultats suffisamment approchés et de simplifier considérablement les calculs toujours assez compliqués.

L'indice de réfraction des solutions d'électrolytes présente souvent des anomalies aux très faibles concentrations : sa variation en fonction de la concentration n'est plus linéaire. Généralement, dans le seul cas des sels d'acides forts (KCl , $NaCl$) ou pour les acides forts eux-mêmes (HCl , $SO^4 H^2$) complètement dissociés à toute concentration, la variation de l'indice est linéaire et, pour une dilution infinie, l'indice tend vers 1,33303 (eau). Pour le carbonate de soude (1), comprenant un ion acide faible, l'accord est moins bon déjà au-dessous de la concentration de 1%, et pour les acides faibles (tartrique, citrique, acétique, oxalique) la variation de l'indice n'est plus linéaire à aucune concentration (on sait que ces acides ont un coefficient de dissociation variable avec leur concentration).

En présence de ces derniers corps, il n'est plus possible de calculer l'indice du mélange qui les renferme au moyen de la relation précédente.

Si, par exemple, on mélange 1cc. de KCl $n/10$, pour lequel on a trouvé $n-1,333$, $= K.4,35$, avec 1cc. d'acide acétique à 10% pour lequel on a : $n-1,333 = K.43,15$

(1) La relation indiquée s'applique encore au CO^3Na^2 pour les C voisins de celle employée dans l'expérience de la page 50:

le mélange a un indice de $n-1,333 = K.26,0$ tandis que la formule (14) indiquerait 23,75. De même, pour un mélange de 1 cc. du KCl précédent avec 2 cc. de la même solution acide, le chiffre trouvé est 32,85 tandis que le calcul indique 30,21. Dans les deux cas, l'erreur est de 9,1%, et ne peut être imputée à une maladresse dans les manipulations (l'erreur possible sur la mesure des volumes est au plus de 1,5 à 2%).

On pourrait songer à tenir compte de l'allure de la courbe représentant la variation de l'indice de l'acide en fonction de sa concentration et faire intervenir dans le calcul le chiffre correspondant à la concentration à laquelle il se trouve dans le mélange. Si nous appliquons cette façon de faire au premier exemple choisi, le chiffre calculé est alors de 21,5, et l'écart entre ce chiffre et la valeur expérimentale passe de 9,4% à 23% 4.

On conçoit d'après cela que cette façon de procéder soit dans ce cas tout à fait défectueuse. D'ailleurs le fait que l'indice de réfraction de l'acide se déplace suivant une courbe en fonction de sa concentration suggère un changement progressif de la structure physico-chimique de celui-ci par dilution progressive.

En définitive, la relation (14) n'est valable qu'en l'absence de toute réaction chimique, et si la variation de l'indice des corps mis en présence en fonction de leur concentration peut être représenté par une ligne droite aboutissant pour $C^0 = 0$, au point d'indice égal à celui du solvant pur.

30. *Prévision des réactions chimiques.* — Les formules 14 et 15 indiquées page ne peuvent naturellement pas s'appliquer au cas où le mélange aboutit à la formation de nouvelles molécules existence d'une réaction chimique : l'indice du mélange est dans ce cas très différent de celui que l'on pourrait calculer en l'absence de toute réaction, et il y a là un procédé permettant d'apprécier quantitativement ce qui se passe par adjonction d'un réactif dans un liquide.

Ce procédé a d'ailleurs été déjà employé avec succès en acidi et alcalimétrie. On sait, en effet, que le point de saturation d'une base ou d'un acide se traduit par une chute souvent très accusée de l'indice du mélange. De même dans le cas d'acides ou de bases à plusieurs valences d'activités très différentes, la saturation de chacune de ces valences est indiquée par un point d'inflexion parfois seulement par un point de rebroussement, mais toujours très net sur la courbe représentative de l'indice du mélange en fonction de la quantité de réactif ajouté. Ce procédé de dosage, extrêmement précis et qui évite les inconvénients de l'addition d'indicateur coloré pouvant introduire des erreurs, peut être mis en œuvre très rapidement sur de très petites quantités de liquide, en opérant dans des cuves spécialement aménagées pour cet usage et qu'il est facile d'imaginer.

Nous avons fait établir spécialement dans ce but des cuves construites sur le principe de celles que nous avons précédemment décrites page 14, possédant

(1) L'interprétation n'est pas tout à fait la même dans le cas de l'acide oxalique par exemple, pour lequel le point de raccordement des deux fragments de droite correspondant à une concentration de 0,5 molécules par litre environ, à 22 degrés. A cette température, en effet, les solutions plus concentrées sont à l'état de sursaturation.

les mêmes avantages et s'adaptant sur l'appareil de Jobin et Yvon. Pour la mesure, l'une d'elles est remplie d'eau, l'autre, où se produit la neutralisation, utilise seulement 2 cc. de liquide pour son remplissage.

Il faut naturellement employer des réactifs très dilués et les verser avec une microburette dûment étalonnée, en faisant les corrections d'usage.

Pour plus de détails sur cette question particulière qui sort du cadre de notre travail, nous renvoyons à la publication de M. Bourdeau (16). Les considérations précédentes, apparemment doivent être tout à fait générales et ce sont elles qui nous ont guidés dans l'étude que nous avons entreprise sur le sérum sanguin.

Plus précisément, si l'on met en présence des substances satisfaisant individuellement aux conditions d'application de la relation (14, une différence entre l'indice trouvé et celui calculé pour le mélange en résultant sera significative de l'existence d'une réaction entre ces substances, et pourra même dans certains cas donner des indications quantitatives sur ce qui se passe dans ce mélange.

Il y a là, le principe d'une méthode qui peut sembler appelée à prendre un certain intérêt dans le cas où l'on dispose seulement de très petites quantités de produit, ou si les corps étudiés existent seulement à l'état de traces ou peuvent réagir en quantités infimes, comme il arrive souvent en biologie.

31. *Dilution du sérum en présence de substances étrangères.* — Il semble intéressant de comparer l'indice d'un sérum dilué avec de l'eau et l'indice d'un même sérum dilué en présence d'une substance étrangère dont on connaît bien l'indice et ses variations en fonction de la concentration.

Naturellement, il serait intéressant de faire cette comparaison avec des concentrations très différentes en sérum. Cependant nous avons dû, pour plusieurs raisons, limiter pour le moment notre effort à l'étude de ce qui se passe aux fortes concentrations. En effet, bien que la délicatesse de ces mesures rend le travail fort long, nous n'avons pas cru devoir dès maintenant diluer beaucoup le sérum, dans l'ignorance où nous sommes de la véritable nature des perturbations que cette dilution entraîne. D'autre part, nous avons tenu à n'ajouter que des traces de la substance additionnelle, dans la crainte que de plus fortes quantités ne modifient trop profondément la structure physico-chimique, ne serait-ce que par une trop grande modification de sa pression osmotique. Cette dernière circonstance facilitera de plus les raisonnements ultérieurs. Après quelques tâtonnements, nous nous sommes finalement arrêté à la technique suivante.

TECHNIQUE. — Pour chaque échantillon du sérum nous avons déterminé successivement : l'indice du sérum pur, l'indice du sérum dilué, et celui du sérum dilué en présence d'une quantité déterminée de substance étrangère, les mesures étant faites à la même température.

Pour la comparaison des chiffres, il est nécessaire de connaître très exactement la grandeur des deux dilutions. Pour cela nous avons employé la technique de numération des gouttes précédemment exposées, et compte tenu des variations éventuelles de la température. Nous avons fixé une fois pour toutes, pour cette partie de notre travail, la concentration du sérum. Comme substance addition-

nelle employée lors de la seconde dilution, nous avons utilisé successivement différents sucres et quelques sels ayant une importance particulière en biologie. Ces corps ont été employés à des concentrations voisines de 1 pour 1.000, et leur indice de réfraction soigneusement déterminé à cette concentration et à la concentration réalisée lors de leur mélange avec le sérum (1).

Pour ces expériences, et pour faciliter les raisonnements ultérieurs (page 60), l'idéal serait d'opérer avec une substance additionnelle n'ayant rigoureusement aucune action sur les constituants du sérum ou du liquide de dispersion de celui-ci. Malheureusement, un tel corps n'est pas connu : il ne faut pas craindre de penser que tout peut avoir une influence sur sa structure. Quelques-uns des raisonnements qui suivent supposent qu'entre les micelles existe un liquide qui se comporte comme une solution aqueuse. Mais dans le cas du sérum cela n'a jamais été démontré, et peut être rigoureusement inexact.

Il ne faut pas oublier que ce liquide se comporte vis-à-vis des corps chimiques d'une façon tout à fait personnelle, étant capable de dissoudre des substances tel le cholestérol, rigoureusement insoluble dans l'eau. De même, vis-à-vis des colloïdes, le sérum jouit de propriétés dispersantes résistant au chauffage, et pouvant s'exercer sur les gommes, résines et extraits d'organes, d'après Doladihlé (33). Le même auteur a, de plus, montré (34) que ces propriétés pouvaient être modifiées proportionnellement à la concentration de certaines substances additionnelles : kaolin, inuline, venins, et variant parallèlement avec son pouvoir alexique, l'addition de sérum chauffé ayant la même action sur ces deux propriétés. Il est peut-être possible d'expliquer par ce moyen le fait, vu par Brunelli (22), que le sérum jouit de la propriété détruite à 58°, de favoriser la diffusion des colorants vitaux dans la gélatine et les tissus vivants.

On conçoit d'après cet aperçu qu'il soit difficile de présumer ce que l'addition d'une substance quelconque peut produire dans le sérum, même s'il s'agit par exemple d'un sucre très peu actif chimiquement.

Cependant l'emploi de ces substances est intéressant à cause de leur importance physiologique, aussi les avons-nous utilisées dans nos expériences. Notons de plus que, malgré leur faible affinité, les sucres peuvent facilement former des complexes, témoin le comportement du saccharose en présence de corps superficiellement actifs, signalés par Talmond et Pokhil (139).

PRÉSENTATIONS DES RÉSULTATS. — Avec la méthode de mesure des volumes indiquée, il est généralement impossible d'obtenir exactement le même chiffre pour les deux dilutions envisagées. Les deux indices mesurés ne se rapportent donc pas à la même concentration en sérum. Pour avoir des chiffres comparables, le plus simple est de ramener l'indice n_1 du sérum dilué avec de l'eau, à la valeur n' qu'il aurait pour la concentration y°_o réalisée lors de la seconde dilution avec une substance additionnelle. Cette opération se fait facilement en portant sur un graphique les points correspondants à la concentration 100%_o et

(1) Dans les limites des C° utilisées au cours de ces expériences, les corps employés satisfont aux conditions d'application de la relation (14).

à la concentration $x\%$ réalisée effectivement lors de la première dilution (avec l'eau pure) ; on joint les points par une droite (page 51) et il est facile de déterminer sur ce graphique l'indice n' correspondant à la concentration $y\%$, généralement très voisine de $x\%$ effectuée lors de la seconde dilution.

Lorsque le sérum est ensuite amené à la concentration $y\%$ au moyen d'une solution d'indice n_2 le mélange a un indice total n_3 supérieur à n' . Si aucune réaction chimique ne se passe dans ce mélange, et si la répartition des molécules est homogène, la différence $n_3 - n'$ est calculable. On aura, à très peu près :

$$n_3 - n' = (n_2 - 1,33303) \cdot \frac{(100 - y)}{100} = A, \quad (16)$$

dans le cas de solution aqueuses, conformément à ce qui a été exposé page 51 ; et si les conditions indiquées page 63 sont respectées. Si par exception, l'indice de la solution additionnelle est représenté pour les concentrations réalisées dans l'expérience, par une ligne droite ne passant pas par l'origine, au lieu de calculer la différence A de cette façon, on pourra opérer graphiquement, comme pour la détermination de n' à partir de la valeur n trouvée expérimentalement.

Dans tous les autres cas on aura : $n_3 - n' > A$.

D'après les résultats précédents, nous avons pensé que cette dernière circonstance devait se trouver réalisée dans le sérum sanguin, et que la considération de la grandeur : $(n_3 - n') - A$, pouvait donner des renseignements sur sa structure physico-chimique.

Dans ce qui suit nous indiquerons pour chaque sérum les grandeurs suivantes :

n' : indice du sérum à la concentration $y\%$.

A : pour la solution additionnelle à la concentration finale $1/1000$. $\frac{(100 - y)}{100}$;

n_3 : indice du sérum à la concentration $y\%$ en présence de cette solution ;

la valeur $n_3 - n'$;

la différence $(n_3 - n') - A$.

Étant donné la faible concentration de la solution d'indice n_2 employée, la valeur A est toujours très petite. Aussi a-t-il été nécessaire dans chaque cas, d'effectuer soigneusement toutes les corrections indiquées, tant sur les volumes que sur la mesure de l'indice lui-même, ce qui entraîne des calculs embrouillés et assez longs. Pour plus de sûreté, l'extrapolation graphique pouvant entraîner des erreurs, aussi souvent que possible, les variations de A ont été mesurées directement avec l'appareil lui-même. Ces valeurs ne sont autres que celles de la différence entre l'indice de la solution additionnelle à la concentration finale réalisée dans le sérum, et l'indice du solvant pur (ici l'eau distillée pour laquelle $n = 1,33303$).

32. Influence de quelques non-électrolytes. — En premier lieu nous avons examiné l'action des sucres, tant à cause de leur importance en biologie que de la solidité de leur molécule non susceptible d'être altérée par les ferments du sérum dans les conditions de l'expérience, et pendant la durée de la mesure.

Les solutions sucrées ont été réalisées à la concentration de 1 gr. par litre ; le sucre chimiquement pur et sec étant pesé à $1/5$ de mmg. près. Ces solutions ont

été conservées sous une couche de toluène pur dans des flacons de verre neutre et dur, et à l'obscurité. Nous avons constaté que dans ces conditions, au bout de plusieurs mois leur indice de réfraction varie au plus de quelques unités de la sixième décimale.

Nous avons ainsi mesuré l'action du maltose, arabinose, galactose et surtout glucose.

Ces différents sucres sont loin d'avoir des actions indentiques, et l'effet observé n'a jamais aucune relation avec la grandeur de leur indice de réfraction en solution. Voici à ce sujet quelques expériences sur des sérums humains (tableaux 17-18-19) :

I. — Sérum très fortement opalescent de sujet en bonne santé apparente, pour la concentration finale de 78,2% :

Sucres	$n_3 - n'$	$(n_3 - n') - A$
glucose	0,000360	0,000345
arabinose	0,000555	0,000530
maltose	0,000675	0,000657

TABLEAU 17

II. - Sérum humain normal apparemment, pour la concentration finale de 85,7% :

Sucres	$n_3 - n'$	$(n_3 - n') - A$
glucose	0,000120	0,000105
arabinose	0,000280	0,000255
maltose	0,000160	0,000142

TABLEAU 18

III. — Sérum humain pathologique, pour la concentration 78,2% :

Sucres	$n_3 - n'$	$(n_3 - n') - A$
glucose	0,000160	0,000145
arabinose	0,000550	0,000525
maltose	0,000490	0,000472
galactose	-0,000430	0,000460

TABLEAU 19

IV. — Sur un sérum de cheval les résultats sont identiques, pour la concentration 81,2% :

Sucres	$n_3 - n'$	$(n_3 - n') - A$
glucose	0,000130	0,000115
arabinose	0,000170	0,000145
maltose	0,000110	0,000092
galactose	-0,000330	0,000360

TABLEAU 20

Sur quelques sérums humains de sujets cliniquement normaux, nous avons trouvé les résultats suivants en présence de glucose, toutes les mesures étant ramenées à la concentration 83,8% (tableau 21) :

Sérums	n	n'	A	n_3	$(n_3 - n') - A$
I	I,349936	I,347800	0,000015	I,347866	0,000051
II	I,351320	I,347480	1d.	I,347700	0,000185
III	I,350060	I,346480	1d.	I,346560	0,000065
IV	I,349020	I,347350	1d.	I,347480	0,000015
V	I,347990	I,346370	1d.	I,346390	0,000005

TABLEAU 21 .

On voit que, à part le cas du sérum 2, les chiffres trouvés sont faibles et assez voisins les uns des autres. Le sérum 2 se place à part, car seul il est très nettement trouble en l'absence de toute dilution (1). Nous verrons plus loin que le chiffre trouvé peut s'expliquer par quelques considérations très simples.

Voici pour terminer un certain nombre de déterminations sur le sang des quelques oiseaux dont nous disposons. Le sérum a été recueilli de la façon indiquée page 36.

Sujets	n	n'	A	n3	(n3-n')-A
Coq I	I,348230	I,345210	0,000015	I,345570	0,000345
Chapon	I,347980	I,345400	id.	I,345430	0,000015
Chapon	I,347850	I,346090	id.	I,346130	0,000025
Coq II	I,348130	I,346570	id.	I,346790	0,000185
Chapon	I,346870	I,345710	id.	I,346050	0,000145

TABLEAU 22.

Disons simplement que nos premières expériences sur ces animaux semblent indiquer des variations sous l'influence de l'alimentation. Sur ce sujet nos recherches continuent avec M. Louvier.

On peut se demander si les indications fournies par ces mesures ont une signification physico-chimique quelconque, et si les chiffres obtenus sont en rapport avec la structure du sérum. Pour répondre à cette question, nous avons effectué de semblables mesures sur les sérums pathologiques qui nous ont préalablement servi et sur lesquels nous avons constaté déjà des différences très nettes quant à leur indice de réfraction et à leur comportement en présence d'eau. Voici le détail de ces mesures, toutes les déterminations étant rapportées, pour permettre la comparaison, à la concentration finale de 83,8% de sérum.

Sérums	n	n'	A	n3	(n3-n')-A
Oedème	I,347880	I,346700	0,000015	I,346860	0,000145
Cirrhose	I,350976	I,346120	id.	I,346582	0,000447
id. 15j. après	I,349520	I,348650	id.	I,348910	0,000245
Cirrhose avec oedème	I,346980	I,345480	id.	I,345640	0,000145
Néphrite	I,351556	I,347940	id.	I,348689	0,000734
Furonculose	I,350780	I,348680	id.	I,348950	0,000255

TABLEAU 23 .

(1) M. Brocq-Rousseau et d'autres auteurs ont signalé des cas de sérums spontanément opalescents (21), mais il n'en a pas encore été donné à notre connaissance d'explication satisfaisante.

De même sur des sérums dont l'état physique a été modifié par chauffage (Lecomte du Nouy 90), on observe, en présence de glucose, des différences en rapport avec le changement des conditions expérimentales, tandis que l'indice du sérum pur varie très peu dans ce cas et d'une façon nullement significative.

Voici les résultats obtenus sur 6 sérums de cheval, pour la concentration finale de 86,5%, présentant à l'état pur et après des durées de chauffage très différentes, des indices très voisins les uns des autres, comme on peut le voir dans la première colonne du tableau 24 (1) :

S.	Durée de chauf.	n	n'	A	n3	(n3-n')-A
1	10' à 56°	I,349970	I,348440	0,000015	I,348570	0,000115
2	10' à 60°	I,349410	I,348155	1d.	I,348710	0,000701
3	10' à 63°	I,349390	I,348168	1d.	I,348490	0,000307
4	10' à 65°	I,349450	I,348215	1d.	I,348770	0,000540
5	10' à 65,5	I,349570	I,348250	1d.	I,348790	0,000525
6	10' à 66°	I,350530	I,349230	1d.	I,349530	0,000285

TABLEAU 24 .

Que se passe-t-il maintenant, dans le cas particulier de l'action du glucose, si l'on fait varier la concentration en sérum, ce qui, comme nous l'avons vu, doit entraîner une modification structurale ? Dans le cas d'un sérum humain, nous avons obtenu les résultats suivants pour la grandeur : $(n3-n')-A$:

à la C° de 83,8% : 0,000334

à la C° de 68,1% : 0,000395

53,2% : 0,000307

Pour un autre sérum humain de sujet sain, nous avons trouvé de même à 18° :

à la C° de 73,3% : 0,000010

71,8% : 0,000008

Huit séries de mesures sur des sérums de cheval nous ont donné des résultats du même ordre. Voici le détail de l'une d'elles prise au hasard (tableau 25) :

C° sérum	(n3-n')-A
89,6%	0,000275 .
74,6%	0,000225
56,0%	0,000257
40,7%	0,000145
37,3%	0,000220

TABLEAU 25 .

(1) Les sérums 4, 5 et 6 ont été examinés à la concentration finale de 83,8% .

On voit que la valeur trouvée est sensiblement indépendante de la concentration en sérum : les différences observées sont très faibles et ne présentent aucune allure de variation systématique. Nous verrons plus loin quelle peut être la signification et l'interprétation de ce fait inattendu.

En résumé, des expériences précédentes se dégagent les points suivants, se rapportant à deux chefs :

I. — Indice du sérum en l'absence de substance étrangère :

a) L'indice de réfraction est lié à la concentration par une relation linéaire pour des dilutions faibles ou seulement moyennes ;

b) La droite représentative ne passe pas par l'origine (point d'indice égal à celui de l'eau ;

c) La dilution par l'eau distillée provoque, surtout aux faibles concentrations, une modification systématique de la structure physico-chimique se traduisant par une courbure dans le graphique représentatif de l'indice en fonction de la concentration.

e) La pente de ce graphique aux fortes concentrations n'est pas caractéristique, variant beaucoup d'un sérum à l'autre, même si ceux-ci présentent à l'état pur des indices très voisins. Elle n'est que rarement intéressante dans les cas pathologiques ; cependant quelques maladies s'accompagnent de modifications intéressantes de l'indice du sérum pur et de la pente du graphique envisagé, qui mériteront une étude approfondie.

II. — Indice du sérum en présence de substance étrangères :

a) l'addition d'un sucre à la concentration finale de 0.1 p. mille (environ) provoque une élévation de l'indice du sérum très supérieure à celle que l'on pourrait calculer s'il s'agissait d'un simple mélange ;

b) les différents sucres : glucose, maltose, galactose ont, avec des indices voisins en solution, des actions très différentes les uns des autres, à concentration finale égale, et leur action respective est sans relation avec leur indice de réfraction. Dans le cas du galactose en particulier, on observe une diminution de l'indice du sérum, ce qui est nettement significatif de l'existence d'une réaction chimique entre le sucre et les constituants du sérum.

c) l'action de ces substances, du glucose en particulier, est liée à la structure physico-chimique du sérum : le sérum normal fournit toujours des chiffres très voisins et très différents de ceux obtenus avec des sérums pathologiques et des sérums chauffés à différentes températures (tous considérés à la même concentration finale).

d) le phénomène ainsi mis en évidence paraît, au moins dans le cas du glucose, indépendant de la concentration en sérum.

CHAPITRE III

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les modifications de l'indice de réfraction du sérum par adjonction de substances étrangères ne peuvent être dues à un simple mélange, comme nous l'avons vu.

Dès lors trois hypothèses se présentent à l'esprit pour expliquer les résultats précédents :

1. Les substances ajoutées sont ADSORBÉES par les constituants du sérum ;
2. Elles se répartissent uniformément dans le liquide situé entre les constituants du sérum se trouvant à l'état colloïdal, de sorte que leur concentration dans ce liquide est très supérieure à celle envisagée dans le calcul précédent.
3. Il peut se produire une véritable réaction chimique entre les corps ajoutés et les constituants du sérum.

La discussion de ces trois points soulève toute la question de la structure physico-chimique du sérum, sujet immense sur lequel personne n'est d'accord et que nous ne pouvons songer à épuiser ici. Aussi allons-nous dans les chapitres suivants, examiner chacune de ces hypothèses en utilisant uniquement pour le moment les indications fournies par les mesures d'indice de réfraction.

Absorption par les constituants du sérum. — Supposons que les substances ajoutées à l'état de traces dans le sérum, comme c'est le cas dans nos expériences, se fixent sur les constituants de celui-ci par adsorption. Ce phénomène doit, entre autres résultats :

- a) faire baisser beaucoup la concentration de ces substances dans le liquide interparticulaire, s'il existe ;
- b) augmenter la taille des particules ayant fixé ces matériaux, et modifier leurs propriétés optiques.

Le premier de ces phénomènes ne doit pas entraîner de variation notable de l'indice de réfraction du liquide interparticulaire étant donné la très faible concentration des corps ajoutés : on a vu que, pour la concentration de 0,1p. 1000 le glucose présente par rapport à l'eau une différence d'indice de 0,000015 seulement. Si toute la substance ajoutée était adsorbée, on aurait donc au plus une baisse de l'indice du liquide égale à cette dernière valeur.

Cette baisse peut être compensée, dans le liquide total, par une modification des propriétés optiques des particules adsorbantes. Mais *a priori*, il semble difficile de prévoir l'effet produit. Cet effet doit en particulier dépendre de l'indice de réfraction initial de ces particules. Pour faciliter le raisonnement, considérons schématiquement une de ces particules isolée, d'indice n , et de diamètre d . Le chemin optique parcouru par la lumière dans cette particule est : $L = dn$. Si cette particule fixe à sa surface une couche d'épaisseur a de la substance d'in-

dice n' ajoutée au sérum, on aura un nouveau chemin optique L' tel que :

$$L' = L + 2a n' \quad (17),$$

le diamètre total de la nouvelle particule étant alors :

$$D = d + 2a, \text{ et son indice moyen étant } n''.$$

On peut donc écrire :

$$L' = D n'' = d n + 2a n' \quad (18)$$

d'où :

$$n'' = \frac{d n + 2a n'}{d + 2a} \quad (19).$$

On a d'autre part : $2a < d + 2a$, il s'en suit que, si $n' < n$, on aura : $n'' < n$, ou en d'autres termes, si la substance ajoutée a un indice plus faible que celui des particules absorbantes, son absorption doit conférer à la nouvelle particule ainsi constituée un indice plus faible que celui de la particule initiale.

Ce raisonnement suppose d'ailleurs que le phénomène d'absorption est seul à intervenir et joue de la manière simpliste qui vient d'être indiquée, ce qui est possible mais n'est pas démontré. C'est pourquoi nous considérons ces prévisions surtout comme base d'un programme pour des recherches ultérieures.

Dans le cas du sérum sanguin, n est totalement inconnu. On peut supposer cette valeur élevée, les particules absorbantes, si elles existent devant être constituée par des substances protéiques ou lipidiques. On sait, en effet, que les variations de l'indice du sérum non dilué sont pour une très grande part sous la dépendance des variations de la concentration en albumine qui est cause pour beaucoup de la valeur élevée de cet indice. Il est donc fort probable que l'on a $n' < n$; en présence de sucre, d'où l'on peut vraisemblablement déduire que l'absorption doit entraîner une baisse de l'indice du liquide examiné.

Pour être complet il faudrait tenir compte des coefficients de corps dissous et aussi de l'augmentation du diamètre des particules, qui diminue d'autant le chemin parcouru par la lumière dans le liquide interparticulaire, mais cette cause de variation doit être peu importante étant donné la faiblesse relative de la concentration de la substance ajoutée dans nos expériences, par rapport à la concentration protéique ou lipidique du sérum ; d'autre part il faudrait tenir compte également de la diminution de l'indice de réfraction du liquide interparticulaire due à l'adjonction d'eau apportée avec la substance additionnelle, toutes causes intervenant dans le même sens : les conclusions restent inchangées.

Or, l'expérience nous montre que, dans tous les cas sauf en présence de galactose, l'indice du sérum augmente par adjonction d'un sucre à l'état de traces, et augmente plus que s'il s'agissait d'un simple mélange, il faut donc probablement admettre que, si les phénomènes d'absorption interviennent, leur rôle doit être extrêmement faible et imperceptible.

Dans le cas du galactose, l'adsorption peut intervenir d'une façon plus intense, mais elle ne peut à elle seule expliquer la valeur relativement considérable trouvée pour la grandeur $(n_3 - n) - A$ (définie page. 55).

33. *Répartition homogène dans le liquide intermicellaire du sérum.* - Cette seconde hypothèse exige un examen plus approfondi, car elle soulève toute la question de la structure colloïdale du sérum sanguin.

Bien que les termes : substances ou milieu colloïdal soient encore assez mal définis actuellement, surtout en ce qui concerne les liquides biologiques, nous pouvons admettre entre les différents objets rangés sous ce vocable un certain nombre de propriétés communes et d'analogies qui différencient nettement leur comportement de celui des solutions salines par exemple. Les liquides colloïdaux ont été caractérisés par une structure hétérogène, pour ne pas dire complètement discontinue. Mais il faut faire une distinction entre l'hétérogénéité que l'on peut attribuer au sérum sanguin par exemple, optiquement vide lorsqu'il est très frais, et celle que l'on rencontre dans une suspension aqueuse de gomme gutte ou de mastic, dans lesquelles l'ultra-microscope révèle des sphères nettement délimitées réparties au hasard dans le solvant.

Les travaux de J. Perrin ont montré les analogies qui existent entre les phénomènes se passant dans certains milieux colloïdaux et ceux ayant leur siège dans une atmosphère gazeuse : ces phénomènes sont fondamentalement les mêmes, mais s'opèrent simplement à des échelles différentes.

La mesure de l'indice de réfraction doit donc donner des renseignements sur la structure de ces milieux, comme elle en donne sur celle des masses gazeuses. On sait que dans la masse gazeuse, l'indice de réfraction total $n-1$, est égale à la somme des indices de chacun des constituants : (n_1-1) , (n_2-1) , considérés chacun à la pression qu'il aurait s'il occupait seul le volume total (page 49), c'est-à-dire à sa pression partielle, ou encore à sa concentration dans le mélange. Dans le cas d'un mélange de deux gaz on peut donc écrire :

$$100 (n-1) = (n_1-1). C_1 + (n_2-1). (100-C_1) + \dots \text{etc. (20).}$$

Si l'analogie proposée par J. Perrin est exacte, cette équation doit encore pouvoir intervenir dans le cas d'une suspension colloïdale constituée par une atmosphère particulaire (suivant à peu près les lois des gaz) répartie dans l'atmosphère moléculaire du solvant ou du liquide de dispersion. Nous avons pensé pouvoir faire un pas de plus dans l'analyse de la structure des liquides colloïdaux en tenant compte des chemins optiques définis page 8.

Prenons le cas théoriquement le plus simple, et d'ailleurs purement hypothétique : celui d'une suspension colloïdale constituée par un milieu isotrope d'indice de réfraction : (n_s-1) , renfermant des micelles homogènes, transparentes, et assimilables à des sphères ; et supposons que tout l'ensemble obéisse aux lois des mélanges gazeux. Nous verrons plus loin les restrictions qu'il convient d'apporter à cette hypothèse simpliste, mais suffisante pour nous guider au début de cette étude.

Soit nm l'indice de réfraction de ces micelles dont le diamètre est D . Plaçons cette suspension dans une cuve à faces parallèles (fig. 12) d'épaisseur l , traversée perpendiculairement par un rayon lumineux. Pour faciliter le raisonnement nous opposerons ce rayon infiniment mince, engendré par la trajectoire d'un point.

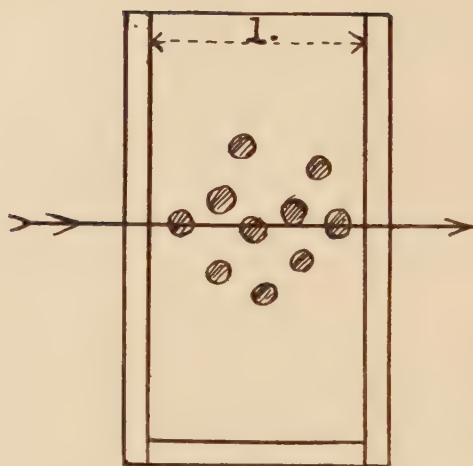


FIGURE 12

Le chemin optique (exprimé en mm , ou en λ parcouru dans le liquide par le rayon lumineux est égale à la somme des chemins parcourus :

- a) d'une part à travers N micelle se trouvant sur son trajet, soit $xI = nm \cdot ND$;
- b) d'autre part à travers le milieu intermicellaire, dont l'épaisseur est égale à $a : l \cdot ND$, de sorte que :

$$x2 = ns \cdot (l \cdot ND).$$

Le chemin optique total s'exprimera par la relation :

$$L = nm \cdot ND + ns \cdot (l \cdot ND). \quad (21).$$

Il est directement mesurable au moyen du réfractomètre interférentiel, qui donne le résultat en fonction de λ et de l . Si les indices nm et ns sont connus, il est facile de calculer le produit ND . Ce produit porté à la troisième puissance, et rapporté à un volume cubique ayant pour côté l'épaisseur de la couche liquide examinée l , représente le volume relatif des micelles contenues dans lcm cube de suspension. Malheureusement les valeurs nm et ns sont rarement accessibles à la mesure. Et même dans le cas où ces valeurs sont connues en solutions aqueuses, elles ne seraient probablement pas utilisables pour des études sur les liquides biologiques généralement complexes, dans lesquelles des phénomènes de contact et des actions électriques peuvent modifier le volume des micelles et la nature de leur surface.

Cependant, on peut songer à mesurer une valeur relative et approchée du produit ND , si l'on parvient à effectuer deux mesures successives au cours desquelles nm et ns resteront constants, tandis que N ou D varieront : pour cela il semble que l'on puisse diluer la solution initiale dans des proportions connues avec des liquides d'indice connus.

On discutera plus loin pour savoir si cette proposition est légitime, car *a priori* elle prête le flanc à de nombreuses critiques. Voyons tout de suite à quoi elle peut conduire.

Si N représente le nombre de particules contenues dans un cube ayant pour côté l'épaisseur de la cuve qui servira aux mesures, le nombre de particules contenues sur un côté de ce cube est $\sqrt[3]{N}$.

1. Diluons la suspension étudiée avec un égal volume d'eau pure.

Le chemin optique total deviendra :

$$L_1 = \frac{nm \cdot D \cdot \sqrt[3]{N}}{2} + \frac{ns + 1,333}{2} \cdot (l - D \cdot \sqrt[3]{N}) \quad (22)$$

d'après ce que nous avons dit page .

2. Diluons ensuite avec un égale volume d'une solution d'indice n_4 . Nous aurons un nouveau chemin optique L2 tel que :

$$L_2 = \frac{nm \cdot D \cdot \sqrt[3]{N}}{2} + \frac{ns + n_4}{2} \cdot (l - D \cdot \sqrt[3]{N}) \quad (23)$$

La différence entre les équations 22 et 23 donne :

$$L_2 - L_1 = \frac{n_4 - 1,333}{2} \cdot (l - D \cdot \sqrt[3]{N}) \quad (24)$$

dans le cas où les mesures sont faites par rapport au vide. De cette expression on tire finalement :

$$\frac{D \cdot \sqrt[3]{N}}{2} = l \cdot \frac{(L_2 - L_1)}{n_4 - 1,333} \quad (25)$$

Dans le cas plus général où l'on aurait pris A parties de la suspension initiale et B parties de solvant d'indice 1,333 ou de liquide d'indice n_4 , un raisonnement semblable donnerait :

$$\frac{D \cdot \sqrt[3]{NA}}{BA} = l \cdot \frac{(L_2 - L_1) \cdot (A + B)}{(n_4 - 1,333) \cdot B} \quad (26)$$

Cette équation s'applique dans le cas où les substances étudiées se comportent comme des gaz. En réalité, pour ce qui nous intéresse, il n'en est pas tout à fait ainsi, et l'indice des liquides varie avec leur concentration d'une façon un peu plus compliquée : il y a donc lieu de corriger le second terme des équations 22 et 23, ce que nous envisageons plus loin.

Application au sérum. — Admettons provisoirement l'hypothèse d'une structure colloïdale du sérum sanguin. Dans ce cas l'application des équations 22 et 23 n'est pas immédiate. Nous avons vu en effet que la droite représentative des variations de l'indice de réfraction du sérum en fonction de sa concentration ne passait pas par l'origine (point d'indice égal à celui de l'eau pure). D'après ce que nous avons dit page 45, il est nécessaire de modifier le second terme du 2^e membre des équations. Par exemple, dans le cas d'une dilution du sérum à $\frac{1}{2}$, l'indice ne devient pas $\frac{n + 1,333}{2}$, mais d'après le graphique 12, présente une

valeur souvent beaucoup plus forte. Il est vrai que, d'après l'équation 22 cette condition exigible pour l'indice du liquide intermicellaire, n'est pas forcément

vraie pour l'indice du sérum considéré dans son ensemble. Cependant si la dilution est assez faible et n'entraîne pas de variations notable de nm ni de D , la valeur de $nmD \cdot \sqrt[3]{N}$ doit encore diminuer de moitié par dilution à $\frac{1}{2}$ par exemple : nous verrons plus loin quelles limites cette assertion est valable page 67. Il s'en suit que, dans l'hypothèse d'une structure colloïdale, l'excès d'indice présenté par le sérum dans les tableaux 17 à 25, par rapport à ce que la relation 14 indique, ne peut être attribué qu'à un phénomène se passant en dehors de micelles, c'est-à-dire dans le liquide interparticulaire.

Donc dans la pratique, la grandeur $\frac{ns + 1,33303}{2}$ devra être remplacée par

un chiffre ns déterminé expérimentalement, et qui dépend de la valeur de l'indice du sérum à la concentration envisagée. D'après ce que nous venons de dire, ceci suppose que ns varie, en fonction de la concentration, exactement de la même façon que l'indice global du sérum, ce qui est assez vraisemblable, mais aurait cependant besoin d'une démonstration expérimentale, au cas où l'hypothèse du sérum colloïdal se trouverait confirmée par ces recherches.

Un raisonnement analogue doit être tenu à propos de l'équation 23, dans le cas où n_4 serait, en fonction de la concentration, représenté par une droite ne passant pas par l'origine : dans ce cas $\frac{n_4 - 1,333}{2}$ aura une autre valeur n_4' mesu-

rable expérimentalement et qui devra intervenir dans le calcul. La grandeur $\frac{n_4 - ns}{2}$ de cette équation doit donc être corrigée en tenant compte de cette

observation et finalement on pourra écrire :

$$L_2 = \frac{nmD \cdot \sqrt[3]{N}}{2} + \frac{ns' (I - D \cdot \sqrt[3]{N})}{2} + \frac{n_4' (I - D \cdot \sqrt[3]{N})}{2} \quad (27).$$

A partir de cela il est possible de conduire le calcul comme précédemment et dans le cas général de dilutions quelconques.

Limite d'application. — Le calcul précédent suppose réalisées les conditions suivantes :

- a) Variation linéaire de ns et n_4 avec la concentration — sauf corrections
- b) Absence de réaction chimique ou de phénomène d'adsorption entre les constituants des colloïdes étudiés et les solutions additionnelles.
- c) Invariabilité de nm ; D et N au cours des opérations ;
- d) Indépendance de nm et ns .

Dans le cas du sérum sanguin, nous avons vu que l'indice globale varie linéairement avec la concentration, au moins pour de très fortes concentrations en sérum, et nous avons fait observer qu'il en était probablement de même pour ns page 65. La variation de n_4 est également linéaire dans le cas du sucre, aux très faibles concentrations employées dans les expériences précédentes ; d'ailleurs n_4 est toujours mesurable expérimentalement ; c'est l'indice de la solution additionnelle à la concentration réalisée dans le sérum. Il sera donc possible

d'effectuer la seconde dilution correspondant à l'équation 23 avec un sucre, notamment avec le glucose, dont les solutions présentent une stabilité satisfaisante moyennant certaines précautions, comme nous l'avons précisé page .

La condition *b* a été examinée précédemment page 61 : on a vu que, théoriquement, les phénomènes d'adsorption devaient, au moins dans certains cas, avoir vraisemblablement un rôle infime dans des expériences, avec les réactifs employés.

Quant aux conditions *c* et *d*, elles ne se trouvent probablement pas réalisées dans le sérum sanguin, mais il est cependant possible d'obtenir un résultat très approché. On peut, en toute logique, admettre que *N* varie sensiblement de la façon envisagée si la dilution du sérum est très faible. En effet, pour beaucoup de colloïdes, les grosses micelles fixent les petites seulement aux très faibles concentrations.

De même, aux très faibles dilutions *nm* ne doit pas varier sensiblement. Nous avons vu que l'addition de petites quantités d'eau au sérum ne modifie pas beaucoup ses propriétés physico-chimiques, et que *n* reste lié à la concentration par une relation linéaire dans des limites assez étendues (page 60).

Pour toutes ces raisons, il est nécessaire, pratiquement, de diluer aussi peu que possible le sérum, et d'y ajouter le moins possible de substance étrangère. L'exposé théorique qui précède doit donc, si les hypothèses de départ sont exactes, permettre d'interpréter les expériences rapportées plus haut, pour lesquelles ces conditions ont été respectées.

Application pratique. — Toutes les valeurs figurant dans la relation 27 peuvent être connues aisément. On remarquera que *nm* et *ns'* ne s'y rencontrent plus. Peu important donc les restrictions que nous avons indiquées relativement à ces grandeurs, si toutefois leurs variations sont sans influence sur *N* et *D*.

La valeur de *l* est imposée par l'interféromètre lui-même, qui permet d'autre part de mesurer directement *L1* et *L2*. Si les liquides d'indice *n1* et *n2* correspondant respectivement aux équations 22 et 23 sont placés successivement dans l'une des cuves de l'appareil, l'autre étant remplie d'un liquide d'indice *n*, on observe des déviations des franges correspondant à *x* et *y* divisions du tambour, pour une radiation λ . Ces déviations correspondent respectivement à *x'* et *y'* franges (page 15). On aura donc pour chacun de ces liquides :

$$l(n1-n) = \lambda x' ; \text{ d'où : } L1 = x'\lambda + ln \quad (28)$$

et
$$l(n2-n) = \lambda x' ; \text{ d'où : } L2 = y'\lambda + ln \quad (29)$$

puisque les raisonnements précédents supposent que les mesures sont faites par rapport au vide.

De même, *n4'* sera facilement déterminé (page 49 et 50). Enfin les valeurs de *A* et *B* et *D'* seront obtenues par le procédé de numération des gouttes que nous avons précédemment exposé (page 31). D'après la relation 26, on voit que ces dernières quantités ont une grande importance et doivent être connues avec une précision aussi grande que possible : il faudra donc prendre soin d'effectuer minutieusement toutes les corrections dont nous avons parlé.

Nous avons pensé respecter suffisamment les conditions d'application de cette méthode, conditions d'ailleurs déterminées empiriquement, au moins pour le moment, par la seule considération des formules théoriques, en effectuant les mesures sur des sérums dilués au voisinage de la concentration de 30%, comme dans nos précédentes expériences sur l'action des sucres. Pour la seconde dilution correspondant à l'équation 23, nous nous sommes servi de la même solution de glucose à 1 p. 100 qui avait été utilisable lors de nos premières expériences.

Nous allons examiner maintenant les résultats expérimentaux obtenus à l'aide de ce procédé, dont nous avons essayé préalablement de fixer la légitimité par l'examen de quelques solutions moins complexes que le sérum.

34. *Grandeur du volume micellaire des métaux colloïdaux.* — Cherchons quel peut être approximativement dans quelques cas l'ordre de grandeur du volume micellaire défini par ce que nous avons appelé le « rapport de phase ».

Soit le cas d'une suspension d'argent colloïdal électrique méthode de Bredig à 0,4 mg. p. 1000. Si nous admettons que le diamètre moyen des grains est de 0,1 μ , et leur densité à peu près 5 (1), nous trouvons que le volume total est voisin de 0,008 mm. cube par litre, soit un rapport de 8 à 1.10^{-9} . Même en employant comme substance additionnelle un corps extrêmement réfringent, il est impossible de mesurer des variations d'indice correspondant à de si faibles différences de concentration. Donc, si dans ces conditions on observe, en présence de la suspension, un indice autre que celui de la substance additionnelle dissoute dans l'eau pure, on pourra affirmer que la différence est due à un tout autre phénomène qu'une répartition homogène du corps ajouté dans le liquide intermicellaire.

Nous avons tenté quelques mesures sur une suspension d'argent colloïdal préparé électriquement, en faisant éclater dans l'eau pure, à l'obscurité, un arc de 80 v. 0,9a, entre deux baguettes d'argent pur. La concentration a été mesurée par pesée des électrodes avant et après la préparation. Pour avoir des micelles à peu près de même diamètre, ne disposant pas de centrifugeuse, nous avons conservé, à l'abri de la lumière, cette suspension dans une éprouvette close pendant 8 mois sans lui faire subir le moindre déplacement, pour que la stratification puisse s'effectuer (J. Perrin). Au bout de ce temps nous avons recueilli, au milieu de la colonne, une tranche du liquide correspondant à 1/10 de la hauteur total. C'est sur ce liquide que les mesures contenues dans le tableau 26, ont été faites.

On voit que :

1. Pour les concentrations employées la suspension a pratiquement le même indice de réfraction que l'eau distillée ;

2. Il est impossible de mettre en évidence, au moyen de l'appareil actuel le volume des micelles ;

(1) Les grains d'argent colloïdal ont une structure complexe et renferment divers oxydes et hydrates et des molécules d'eau (Bary, 8).

3. Les phénomènes d'adsorption ne semblent pas intervenir dans ce cas (1).

Nous allons voir que dans d'autres circonstances les choses ne sont pas toujours aussi simples.

C° finale Ag: C° finale :: n glue. dil. : n Ag in glue. dil. avec
pour 1000 :: gluc. p. 1000 avec eau-neut: - n eau:Ag- n id avec eau

0,0001 gr.	0,016gr.	0,000038	0,00000	0,000000
0,00032	id.	id.	id.	id.
0,00047	id.	id.	id.	id.
0,00064	id.	id.	id.	id.
0,010	id.	id.	0,000001	id.
0,7	id.	id.	0,000002	id.

TABLEAU 26 .

35. *Examen réfractométrique des émulsions.* — Essayons de vérifier la méthode sur une émulsion colloïdale renfermant des particules solides à contours apparemment définis : le lait. Nous avons effectué dans ce but un certain nombre d'examens sur des laits de vache (dilués convenablement pour les rendre suffisamment transparents aux rayons lumineux) de différentes provenances que nous désignerons par les lettres V et M. Nous indiquerons dans les tableaux suivans les concentrations en lait réalisées et la valeur du « rapport de phase » R pour la température t° :

L A I T M.

N° expérience	C° lait	R	T°
1	1,2%	0,071	18°
2	1,2	0,166	23
3	1,2	0,074	19
4	1,2	0,068	17
5	1,2	0,078	19
6	1,2	0,065	20

TABLEAU 27 .

(1) Des mesures sur des échantillons d'Electrargol stabilisé qui nous ont été aimablement fournis par les Laboratoires Clin, Comar et C^{ie} nous ont donné des résultats analogues, sauf en ce qui concerne leur indice brut, naturellement plus élevé que celui de l'eau.

LAIT V.

N° expérience	C° lait	R.	T°
1	1,2%	0,050	18°
2	1,2	0,054	23
3	1,2.	0,058	19
4	1,2	0,047	17
5	1,2	0,049	19
6	1,2	0,050	20

TABEAU 28

Voyons si ces chiffres peuvent correspondre à quelque chose de réel. Le lait de vache renferme en moyenne 3 gr. de matières grasses qui s'y trouvent sous forme de gouttelettes de 1 à 10 millièmes de mm., avec une moyenne de 3,5 millièmes. Leur nombre est de 5 millions environ par mm. cube. A ces globules butyreux viennent s'ajouter de très fines particules de phosphate de Ca, et une fraction des albumines constituée surtout par de la caséine, précipitée sous forme solide (pour Duclaux, les deux cinquièmes de la caséine serait déjà floclée dans le lait frais, mais d'après Hugounenc, il est probable que cette proportion est beaucoup trop forte).

Le volume des particules de beurre contenues dans un mm. cube est donc de 0,15 mm. cube à peu près. Si l'on y ajoute le reste des matières se trouvant à l'état solide, il doit donc y avoir bien près de 16 à 16,5% du volume du lait occupé par des matières solides, ce qui, pour le lait dilué à 1,2% donne environ 0,17% pour le rapport des volumes des deux phases. Enfin ce chiffre doit être en réalité, un peu plus fort si l'on tient compte du fait que la dilution du lait augmente la quantité d'albumine coagulée aux dépens de la fraction soluble de la caséine. On voit que les chiffres trouvés sont un peu trop faibles, mais semblent cependant caractéristiques ; un phénomène supplémentaire doit donc intervenir ici ; peut-être s'agit-il de l'adsorption. Des expériences ultérieures nous l'apprendront sans doute. De toute façon ces premières mesures paraissent indiquer que le procédé vaut la peine d'être appliqué au sérum sanguin.

36. *Rapport de phase dans les sérums normaux.* Nous avons effectué une série de mesures en appliquant la méthode qui vient d'être indiquée sur 7 échantillons de sérum humain normal, prélevés sur des sujets en bonne santé apparente. Etant donné la longueur et la délicatesse de ces mesures, on ne s'étonnera pas du petit nombre de nos expériences.

Dans ce qui suit, nous indiquons, pour chaque sérum son indice de réfraction à l'état pur, N, l'indice N' après dilution faible avec de l'eau (ce qui permet d'é-

valuer, au voisinage de la concentration réalisée, la pente d'un graphique analogue à celui de la figure 11), et la valeur trouvée pour le « rapport de phase » R à la température t° , en présence de glucose à la concentration finale de 0,12 p. 1000 (tableau 29).

Sujets	N	C° finale sérum	N°	R.	T°
1	I,349936	83,8%	I,347800	0,76	20°
2	I,351312	Id.	I,347700	2,40	22
3	I,349758	Id.	I,347390	0,18	20
4	I,349964	Id.	I,347540	0,50	21
5	I,349772	Id.	I,347830	3,80	19
6	I,348998	Id.	I,347424	0,75	19
7	I,350015	Id.	I,346950	1,10	19

TABLEAU 29 .

On voit sur le tableau 29 que les chiffres trouvés, très différents les uns des autres, ne correspondent pas à ce que l'on pouvait attendre, d'après les raisonnements précédents : en effet, certaines valeurs du rapport considéré, supérieures de beaucoup à l'unité signifieraient que, dans ces cas, le volume de la phase solide est supérieur au volume total du sérum dans lequel cette phase est en suspension, ce qui est absurde. D'une façon générale, dans les conditions expérimentales que nous avons fixées ($\lambda = 0,0005825$ — $l = 2,30$ mm—C° en sérum de 83,8%—C° en glucose = 0,1p.1000), si la différence entre l'indice du sérum dilué avec l'eau et l'indice du sérum dilué en présence de glucose dépasse 0,000110, le calcul ne donne rien de significatif, le rapport devenant supérieur à l'unité.

Ces mesures permettent donc de conclure que le calcul précédent ne peut s'appliquer aux mélanges de sérum et de la solution sucrée employée. Nous avons vu en effet (page 55) que, dans la plupart des cas, et en particulier pour tous les sérums pathologiques et les sérums chauffés, la différence d'indice trouvée est bien supérieure à la valeur limite ainsi définie.

Cependant, avant de rejeter définitivement la notion de « rapport de phase » dans le sérum sanguin, nous avons voulu effectuer d'autres expériences avec des substances additionnelles différentes, notamment avec des électrolytes. Cette idée n'est d'ailleurs pas nouvelle, car en réalité, la signification du rapport précédemment défini est la même que celle de « l'espace non solvant », mise en évidence par les travaux de Lumière, effectués précisément avec des électrolytes.

37. *La notion d'espace non solvant.* — Les expériences qui sont à la base de la notion « d'eau liée » des auteurs anglais sont celles de Newton et Gortner (108),

qui, en 1922, ayant mesuré le point de fusion de jus de plantes en présence d'une quantité connue de sucre, et le point de congélation d'une solution du même sucre dans une quantité d'eau égale à celle contenue dans le jus, trouvèrent une différence qu'ils appelèrent « *bound water* ». Cette notion fut développée ultérieurement par Gortner (1930).

On a voulu reconnaître également dans les tissus animaux vivants l'existence d'une fraction « d'eau liée » dans laquelle beaucoup de substances ne pourraient se dissoudre. Déjà en 1902 Overton (116) interprétait le fait que les tissus vivants présentaient toujours une pression osmotique plus élevée que celle du milieu dans lequel ils se trouvent plongés, en admettant qu'une partie de l'eau ne peut servir de solvant.

Plus récemment M. Nicloux, en étudiant la diffusion de l'alcool dans les organismes (109) a constaté que ce corps y a toujours une concentration plus faible que dans le milieu extérieur, tandis que le sérum sanguin s'équilibre toujours exactement. Il a été conduit (111, à admettre dans les tissus vivants « une variété d'eau *imperméable* (?) à l'alcool et vraisemblablement à d'autres substances » (92). Cette « variété » d'eau serait de « 59% environ des protéines », et diminuerait sous l'influence de l'asphyxie, du chauffage à 58° et de l'autolyse des tissus (92-94-95). Mais il faut bien dire que ces expériences faites sous l'influence d'un réactif aussi énergique que l'alcool éthylique ne peuvent entraîner la conviction. Nous verrons plus loin (page 86) que l'alcool éthylique a une action très importante sur la stabilité des protéines, comme l'a déjà pressenti Kruyt 82, avant nous, et que sa présence modifie profondément leur structure physico-chimique, ce qui peut expliquer bien des choses.

Ajoutons encore au palmarès de l'eau liée, les expériences de A. Slawinski (132) sur les hématies humaines, qui renfermeraient pour cet auteur 59% d'eau dissimulée de cette façon.

La question fut reprise dans le sérum sanguin par L. Ambard et Ch. Deviller, au moyen de l'ultra-filtration fractionnée. Ces auteurs ont été aussi conduits à admettre qu'une partie de l'eau serait comprise dans un « espace non solvant » (2) et, poursuivant leur analyse, ils tentèrent de prouver que la concentration du Cl va en diminuant depuis le centre des micelles sphériques jusqu'au milieu des espaces intermicellaires : dans leurs expériences, le Cl est de plus en plus difficile à enlever à mesure que l'on multiplie les fractionnements.

A. Lumière et P. Meyer (101) ont de leur côté, constaté par la même méthode, que « l'espace non solvant » passait de 8,5% à 10,7% par addition d'un anti-gène à un sérum, parallèlement à une augmentation de la viscosité de l'ensemble, traduisant l'augmentation de l'imbibition des protéines (donc la diminution de l'eau libre), cette dernière déjà signalée par Lecomte du Nouy et Coppo 93.

Mais toutes ces recherches ne tiennent pas compte des travaux de Hill mesurant les variations de la tension de vapeur avec une très grande précision au moyen d'une thermo-pile de sa fabrication (62). Cet auteur compara les variations de la pression de vapeur (donc de la pression osmotique) par addition de sucre de canne, NaCl, KCl, et eau, dans le sang, et dans une solution de NaCl à 1%. Il constata que dans tous les cas, le rapport : eau liée, eau totale était

égale à 0,98 la créatine et l'urée donnant un rapport très supérieur à l'unité, sans doute à cause de la formation de composés avec les protides ou les lipides présents. Les résultats sont identiques sur la caséine et l'ovalbumine. Enfin, il faut remarquer que le rapport en question devient exactement égal à 1 si les concentrations sont exprimées en nombre molécules par 1000 gr. de solvant comme on doit le faire notamment dans les recherches sur l'indice de réfraction, ainsi qu'il a été dit page 45).

D'ailleurs Hill fait remarquer (63) que, la pression osmotique du sang humain étant, d'après Margarita, égale à celle d'une solution de NaCl à 0,915 gr. dans 100 gr. d'eau, la somme des pressions des 19 substances que, d'après Abderhalden, il est possible de doser dans ce sang, correspond à une solution de sel à 0,913 gr. dans 100 gr. d'eau, et il conclut en admettant que ces substances sont dissoutes dans la totalité de l'eau du sang, rejetant la notion « d'eau liée » pour ce tissu.

3°. *Expérience avec des électrolytes.* — Dans le but de voir si « l'espace non solvant » ne peut être mis en évidence avec d'autres corps que le glucose, nous avons effectué successivement sur chacun des six sérums humains normaux suivants des mesures d'indice :

a) Après dilution faible avec de l'eau distillée ;

b) Après des dilutions identiques avec des solutions de NaCl et KCl à 1 p.1000. Le tableau 30 montre les valeurs de la différence d'indice D entre le sérum dilué avec l'eau et le sérum dilué avec chacun des deux sels, soit respectivement : D_{na} et D_k, ainsi que l'écart $(n_3 - n') - A$, entre la valeur de cette différence et le chiffre que l'on trouverait si il s'agissait d'un simple mélange (page 45) :

Sérums	D _{na}	D _k	$\frac{(n_3 - n') - A}{n_3 - n'}$	
			$\frac{n_3 - n'}{n_3 - n'}$	$\frac{A}{n_3 - n'}$
1	-0,00021	0,000060	-0,000330	-0,000030
2	-0,00025	Id.	-0,000370	-0,000030
3	-0,00006	0,000350	-0,000180	0,000260
4	0,00016	-0,000040	0,000040	-0,000120
5	-0,00058	0,000800	-0,000680	-0,000010
6	0,00004	-0,000020	-0,000020	-0,000060

TABLEAU 30 .

Ces chiffres montrent que le calcul précédent ne peut pas s'appliquer aux mélanges de sérum et de NaCl et KCl : les différences entre les valeurs L1 et L2 (page 67) seraient négatives dans le plupart des cas, et lorsqu'elles pourraient être positives, le chiffre trouvé est beaucoup trop élevé pour que le « rapport de phase soit inférieur à l'unité ».

Ces nouvelles mesures ne permettent donc pas non plus d'affirmer l'existence de l'espace solvant. Si son existence est réelle, il faut admettre qu'un autre phénomène intervient d'une façon prépondérante dans ces expériences, mais il est alors impossible de préciser sa nature.

Sur le tableau 30 il est possible de faire d'autres constatations intéressantes. L'adjonction de NaCl provoque, presque dans tous les cas, une chute assez considérable de l'indice de réfraction du sérum, par rapport au même sérum dilué avec de l'eau pure : en effet, sauf pour le sérum n° 4, où les chiffres trouvés diffèrent à peine, avec et sans NaCl , la grandeur $(n_3 - n') - \Delta$ est négative et relativement très élevée. Il n'en est pas de même pour KCl qui, sauf dans un cas, provoque une chute d'indice très faible ou même parfois une augmentation, par rapport à l'indice calculé dans le cas d'un simple mélange.

Nous avons là vraisemblablement un phénomène lié aux propriétés différentes des deux ions Na et K , et il sera intéressant d'effectuer des comparaisons analogues avec d'autres métaux, notamment Li , Ca et Al .

Les résultats précédent sont d'ailleurs profondément modifiés lorsque l'on examine des sérums de malades. Voici à ce sujet une série de mesures dans quelques cas pathologiques nettement définis (tableau 31).

Sujets	D_{Na}	D_{K}	$\frac{(n_3 - n') - \Delta}{\text{Na} \quad \text{K}}$		C° sérum.
Furonculose	-0,00010	0,00045	-0,00022	0,00036	77,5%
Cirrhose	-0,00143	-0,00195	-0,00155	-0,00204	77,5
id.	0,00030	0,00048	0,00018	0,00060	77,5
id.	0,00012	-0,00051	0,00000	-0,00060	77,5
néphrite	-0,00077	-0,00088	-0,00089	-0,00097	83,8
Basedow	-0,00045	-0,00088	-0,00058	-0,00097	80,0

TABEAU 31 .

Ce très petit nombre de mesures ne permet évidemment pas de tirer des conclusions. Mais nous voyons pourtant que le comportement de ces sérums pathologiques est très différents de celui des sérums normaux, surtout en présence de KCl : au lieu d'avoir une faible baisse de l'indice de réfraction, du mélange par rapport au chiffre calculé, on a ici, soit une forte chute, soit une hausse importante. L'action de NaCl semble moins intéressante au moins pour l'instant.

Il y a peut-être là le point de départ de recherches intéressantes : il semble permis de supposer par exemple que l'effet des injections de sérum salé aux animaux, ne se ramène pas à une simple dilution de leur milieu intérieur.

En définitive, les expériences tendraient à prouver que l'addition de NaCl et KCl (1) à un sérum ne produit pas une variation de l'indice de réfraction iden-

(1) Ca Cl_2 se comporte à peu près comme KCl , mais nos mesures trop peu nombreuses ne valent pas d'être rapportées.

tique à ce que l'on pourrait prévoir si la notion « d'espace non solvant » correspondait à quelque chose de réel, mais indique plutôt l'existence de réactions physico-chimiques probablement en rapport avec la structure du sérum.

D'autres faits plaident encore en faveur de cette conclusion, en particulier l'indépendance du résultat et de la concentration en sérum, indiquée page 59, et dont nous donnerons plus loin l'explication.

39. *Influence d'un sel sur le comportement du sérum en présence de glucose.* — Voyons comment un sel, KCl par exemple, peut modifier le comportement du sérum en présence d'une substance étrangère telle que le glucose dont nous connaissons maintenant l'action. Pour élucider ce point, préparons des mélanges de sérum et de sel, renfermant, à concentration égale (ou presque) en sérum, des doses croissantes de sel, et effectuons sur les solutions obtenues les deux mesures d'indice : après dilution avec de l'eau distillée, et après dilution avec le glucose à 1 p. 1000. Voici par exemple le détail d'une expérience de ce genre faite à 18° avec un sérum humain (tableau 32) :

I) liquide initial : sérum à 78,4 % plus KCl 0,1 gr. p. 1000			
a)	amené à la C°	69,9 % avec de l'eau :	$n = 1,343270$
b)	»	» » glucose :	$n = 1,344300$
d'où : $n_3 - n = 0,00103$ et $(n_3 - n) - A = 0,001015$			
II) liquide initial : sérum à 77,5 % plus KCl à 0,14 gr. p. 1000			
a)	amené à la C°	69,1 % avec de l'eau :	$n = 0,344100$
b)	»	» » glucose :	$n = 1,344280$
d'où : $n_3 - n = 0,000100$ et $(n_3 - n) - A = 0,000085$			
III) liquide initial : sérum à 76,2 % plus KCl à 0,20 gr. p. 1000			
a)	amené à la C°	68 % avec de l'eau :	$n = 1,343840$
b)	»	» » glucose :	$n = 1,343880$
d'où $n_3 - n = 0,000040$ et $(n_3 - n) - A = 0,000025$			
IV) liquide initial : sérum à 75,3 % plus KCl à 0,24 p. 1000			
a)	amené à la C°	67,2 % avec de l'eau :	$n = 1,344010$
b)	»	» » glucose :	$n = 1,344025$
d'où $n_3 - n = 0,000015$ et $(n_3 - n) - A = 0,000000$			

TABLEAU N° 32

On peut constater que la présence de sel modifie profondément l'action du sucre. Des doses croissantes de KCl diminuent proportionnellement l'augmentation d'indice du sérum dû à la présence du glucose, et dans le cas de l'expérience précédente, à la concentration de 0,24 gr. p. 1000 elles compensent exactement

l'action du sucre : le mélange réalisé à ce moment se comporte exactement comme le sérum pur.

Pour expliquer ce phénomène en apparence paradoxale, il faut probablement admettre que le sel envisagé modifie profondément la structure physico-chimique du sérum. D'ailleurs, en l'absence de toute substance étrangère, l'addition de KCl modifie beaucoup le comportement du sérum vis-à-vis de l'eau distillée. Voici par exemple, dans le cas d'un sérum humain, les indices trouvés pour deux concentrations, en présence de quantité croissante de KCl (tableau n° 33) :

C° en KCl en gr. /100	C° en sérum, à 19°	
	75,3%	69,1%
0,1	1,344640	1,343040
0,14	1,344800	1,345005
0,20	1,345100	1,345130
0,24	1,344940	1,345195

TABLEAU 33 .

On voit que pour ces deux concentrations pourtant assez voisines, l'action du sel ajouté est très différente. Il y a là matière à une étude très intéressante que nous avons déjà amorcée, mais qui ne peut trouver place ici, car le phénomène se révèle extrêmement compliqué par l'intervention de la valeur des ions mis en jeu. Il faut simplement retenir que l'addition d'une trace de sel provoque une perturbation très considérable de la structure du sérum dont les propriétés sont altérées chimiquement d'une façon beaucoup plus profonde que ne peut le faire la légère modification de sa stabilité engendrée par le sel dans l'hypothèse d'une structure colloïdale du sérum.

Nous allons voir maintenant que des connaissances nouvelles sur la structure du sérum vont nous permettre de proposer une interprétation de ces phénomènes.

TROISIÈME PARTIE

LA STABILITÉ DES COLLOIDES HYDROPHILES

Nous avons vu que les variations d'indice de réfraction provoquées par adjonction de sucres ou de sels dans le sérum sanguin, ne pouvaient être interprétées complètement ni par un phénomène d'adsorption ni par l'hypothèse d'une répartition hétérogène des constituants, la substance ajoutée se trouvant simplement dissoute dans les espaces intermicellaires. A l'appui de ceci, nous avons montré que la notion d'espace solvant était elle-même fort critiquable.

Il reste à concilier ces premiers résultats avec les faits les plus certains de la statique colloïdale, en particulier avec les données presque universellement admises concernant la stabilité du sérum sanguin en présence d'électrolytes.

Ici nous sommes obligés d'ouvrir une très longue parenthèse, car une étude préalable de la stabilité du sérum a dû être entreprise, certains faits ne nous ayant pas semblé connus avec suffisamment de précision, et certains points de la théorie étant encore trop controversés à notre gré.

CHAPITRE I

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

10. *Etat actuel de la statique colloïdale.* Une question importante se pose actuellement : le sérum sanguin doit-il être considéré comme un sol colloïdal. Cette question soulève d'ailleurs le problème de la définition exacte de l'état colloïdal. A mesure que les études progressent, les limites entre sols colloïdaux et vraies solutions deviennent en effet, de plus en plus indistinctes.

Il est certain qu'un certain nombre de liquides ne se comportent pas de la même façon que les solutions ordinaires, salées ou sucrées par exemple, bien que la structure de ces dernières soit sensiblement plus compliquée qu'on ne l'a cru pendant longtemps. La désignation de SOL COLLOÏDAL IMPLIQUE L'EXISTENCE D'AGGLOMÉRATIONS MOLÉCULAIRES ENTRAINANT INÉVITABLEMENT L'EXISTENCE DE PROPRIÉTÉS SPÉCIALES. En effet, les solutions ordinaires peuvent aussi présenter des agrégats variés de leurs constituants.

C'est ainsi que Landt (86) voyant que le produit : « h , viscosité », croît très rapidement avec la concentration en saccharose en présence de sels ou d'alcali, est conduit à admettre la formation de complexes variables avec cette concentration et la température. De même Schurmann (130), par des mesures dans l'infra-rouge, constate que les ions H et OH introduits dans l'eau s'additionnent les composantes les moins dissociées des agrégats de molécules d'eau, ce qui pro-

voque l'apparition de nouvelles bandes d'absorption. Même dans le cas de liquides purs, il peut se produire des agrégats moléculaires, traduits dans le cas de la benzophénone surfondue par le fait, constaté par Richards et Harris (126) que la lumière diffusée est plus grande à 20° qu'à 50°, ce qui est en contradiction avec la théorie de Einstein-Smoluckowski sur les fluctuations.

Cependant tous ces liquides n'ont pas les caractères des sols colloïdaux.

Les travaux de Francesco Selmi (1817-1881) ont apporté les premières notions sur les propriétés si spéciales d'un ensemble de corps que, depuis Graham nous avons appris à qualifier de « colloïdaux ».

Dès 1836 en effet, Selmi distingua les vraies solutions des pseudo-solutions, ou *expansions*, comme il les appela. Il avait déjà noté l'absence de variation thermique au moment de la préparation, ou de la séparation de la phase solide : l'influence extraordinaire des sels, ainsi que les mutations d'aspect de ces corps, avec ou sans variations de leur « viscosité primaire simulant ainsi une solution vraie, tandis qu'en réalité ce n'est qu'une expansion, une suspension des particules, et non des molécules, dans un milieu liquide ». Il connaissait également les émulsions, et véritablement fonda la science des colloïdes.

Ce n'est que 12 ans plus tard que Th. Graham, en 1848, systématisa ces premières conceptions, définit les colloïdes et précisa leurs propriétés générales, tout en approchant la vérité de moins près que Selmi, puisque ses études sur la dialyse et la formation des gels l'obligeaient à nier les caractères de colloïdes aux métaux colloïdaux. Cependant Graham rendit un immense service à la Science en donnant les bases qui servent encore de ligne de conduite dans les études sur les colloïdes.

Les propriétés générales des colloïdes sont maintenant assez bien connues (voir à ce sujet : Kopaczewski, traité de Biocolloïdologie). Aussi les travaux contemporains ont-ils surtout pour but d'étudier la structure des particules colloïdales elles-mêmes, et de mettre en évidence les relations qui peuvent exister entre cette structure et les propriétés du liquide considéré dans son ensemble. Ces relations commencèrent à être soupçonnées, et les recherches poussées dans cette voie, à partir de 1900 environ, et à partir de cette époque, les études portèrent simultanément sur les colloïdes nombreux que la chimie minérale et organique offrait aux chercheurs, et sur les corps infiniment complexes découverts dans les organismes, ces derniers se prêtant particulièrement mal à l'établissement des lois fondamentales de cette jeune science destinée précisément à étudier plus à fond le fonctionnement des êtres vivants.

Pour faciliter l'étude, il a été nécessaire de diviser les colloïdes en deux groupes, séparés d'ailleurs par des cloisons extrêmement perméables : les *suspensoides* et les *émulsoïdes*. Ce dernier groupe comprend en particulier les corps, dit lyophiles, pour lesquelles l'hydratation de leurs particules (1), très importante, a une influence considérable sur leur stabilité. Nous nous occuperons plus particulièrement de ces derniers corps, auxquels s'apparentent le sérum sanguin et de nombreux liquides biologiques.

(1) Ou plus généralement la « *Solvation* ».

Pour ces substances il existe des relations très étroites entre les micelles et le liquide de dispersion (généralement l'eau). L'expérience prouve facilement cette assertion. Einstein a démontré (29) qu'il existe une relation entre la viscosité ns d'un sol, et le volume total des particules dispersées, telle que : $ns = no (1 + 5/2 \cdot \phi)$, où no est la viscosité du milieu de dispersion. La viscosité doit donc croître avec ϕ et, par conséquent avec la concentration. Qualitativement ceci s'est révélé à peu près exact dans les expériences de J. Loeb sur la gélatine (78). Cette formule s'applique parfaitement lorsque l'on a affaire à des particules sphériques, élastiques, non chargées et de grande dimension par rapport aux molécules du milieu de dispersion, comme l'a bien précisé Bancelin (6). Mais elle ne s'applique pas du tout aux émuloïdes (malgré les tentatives de quelques auteurs), qui possèdent toujours une viscosité plus élevée que ne le veut la théorie : faisant abstraction des autres conditions de l'application qui ne sont pas réalisées dans ce cas, ce fait ne pourrait s'expliquer que si le volume se trouve considérablement sous-estimé. Les partisans de cette conception sont donc conduits à admettre que les particules émuloïdes une fois mises en présence du solvant accroissent considérablement leur volume en s'accaparant un certain nombre de molécules de celui-ci. Cette explication est plausible, mais de toute façon ne peut constituer qu'une approximation ne pouvant expliquer complètement le phénomène, puisque les particules en expériences possèdent très probablement des charges électriques importantes.

Comme les particules de suspensoïdes, les micelles d'émuloïdes peuvent fixer à leur surface des ions, des charges électriques variées et même des molécules entières polarisées, comme le prouve de nombreuses expériences. Cet ensemble doit leur donner un aspect assez complexe, plusieurs schémas ayant été proposés par différents auteurs, et, d'une façon générale on a tendance à concevoir que la condensation de la matière est de moins en moins importante à mesure que l'on s'éloigne du centre des particules.

On pourrait concevoir hypothétiquement d'après cela, que la densité relative, et par conséquent l'indice de réfraction, diminuent régulièrement du centre à la périphérie des micelles qui, par conséquent ne peuvent avoir des contours nettement définis leur permettant de diffracter la lumière et d'être visibles à l'ultramicroscope. On sait en effet, que le plasma sanguin et le sérum très frais sont optiquement vides (voir l'ouvrage de Brocq-Rousseau : *le Sérum sanguin*, Paris 1934).

Il ne semble donc pas que de telles micelles puissent être considérées indépendamment de leur solvant. Et de fait, ce que l'on croit être la mesure de leur volume et de ces variations paraît donner des renseignements intéressants sur les relations existant entre la phase dispersée et le milieu de dispersion.

On a pu évaluer dans quelques cas la grandeur des particules colloïdales à partir de mesures d'électroviscosité et de vitesse cataphorétique (Kruyt 82). On obtient ainsi le volume total de chaque particule, y compris les couches variées d'ions et d'eau qui les entourent. Une mesure séparée de la viscosité permet ensuite d'évaluer à peu près le volume qui revient à la substance sèche,

par application de la relation d'Einstein, mais comme nous l'avons dit, ce dernier nombre est fortement entaché d'erreur.

Les résultats ont montré qu'en général ce dernier volume est beaucoup plus petit que le premier. Ces expériences ont d'ailleurs conduit à une autre constatation. Les mesures extrêmement soignées de Krøyt ont montré que la formule en question représentait à peu près la variation de la viscosité en fonction de la concentration, notamment pour les sols d'agar (Bungenberg de Jong et Krøyt (24), d'amidon (Krøyt et Tendeloo (83) et de gomme arabique. Cependant il y a une légère différence entre la courbe expérimentale et la droite théorique, indiquant que la grosseur des particules varie légèrement avec leur concentration : en d'autres termes leur hydratation n'est pas constante, mais pour les trois substances envisagées cette dépendance reste faible.

En définitive, pour certains émulsoides, les mesures de viscosité montrent que l'hydratation, donc le diamètre des particules dépend de leur concentration. Dans le cas des protéines qui nous intéressent plus spécialement, s'il existe des micelles, on peut estimer que cette dépendance doit être probablement plus accentuée. En 1916 Smoluckowski a montré, par une autre voie que Bancelin, que la formule d'Einstein n'était valable que pour des micelles non chargées. Si elles sont chargées, il existe autour d'elles une sphère répulsive qui accroît sensiblement leur volume. Et l'auteur propose de modifier la formule de la façon suivante :

$$\frac{ns-no}{no} = 5/2 \varphi \left[1 + \frac{1}{Kno. r^2} \left(\frac{D e}{2 x} \right)^2 \right] \quad (30)$$

dans laquelle : K conductibilité spécifique

r rayon cherché

D constante diélectrique

e potentiel électrocinétique de la couche double.

On voit que la viscosité relative doit dépendre ici de φ : volume dispersé, donc de la concentration, mais aussi de e . Le potentiel e , qui se déduit de la formule des condensateurs, dépend de la conductibilité électrique du milieu dispersant et de sa constante diélectrique qui elle-même est fonction de la concentration en ions. Or la quantité d'ions présente dans le milieu intermicellaire commande la charge électrique des particules et, par conséquent leur volume effectif, la relation de Smoluckowski tenant précisément compte de cette dépendance. De fait, si le rayon calculé à partir des mesures d'électroviscosité et de cataphorèse ne varie pas beaucoup en fonction de la concentration pour les corps tels que l'amidon et l'agar, il présente au contraire une variation notable pour les protéines.

En définitive, sans anticiper sur la nature de ces phénomènes, on peut penser, d'après ces travaux, que la structure des solutions protéiques doit se modifier avec leur concentration. Rappelons que de telles variations semblent pouvoir expliquer la forme du graphique de la variation de l'indice de réfraction du sérum en fonction de sa concentration, comme nous l'avons exposé, page 39.

Ces premiers résultats laissent d'ailleurs entière la question de savoir si ces solutions protéiques sont, *en l'absence de tout réactif*, réellement constituées par

des particules nettement isolées dans un liquide intermicellaire, et différent nettement des vraies solutions moléculaires. Dans l'affirmative il faut en effet, que les phénomènes électrocapillaires puissent intervenir à la surface de leurs particules et, dans ce cas, ils conditionneront pour une très grande part leur stabilité, indépendamment du rôle de leur hydratation.

41. *Conditions de stabilité des sols lyophiles.* — Voyons comment les recherches sur la stabilité de ces colloïdes peuvent confirmer ou infirmer les considérations précédentes.

W.-B. Hardy fut le premier à reconnaître l'influence de la charge électrique des colloïdes sur leur stabilité (60). On sait qu'il suffit de faibles quantités d'électrolytes pour entraîner la floculation, l'existence d'un seuil de concentration ayant été reconnue par V.-G. Bodlander (15) et simultanément par Gotting (52 en 1893). Les ions actifs sont ceux qui, en règle générale, possèdent une charge opposée à celle des particules colloïdales envisagées. La mesure du seuil de concentration nécessaire pour amener cette floculation par les électrolytes fournirait des indications sur la stabilité, mais pratiquement on préfère mesurer la « valeur de floculation », amenant la séparation complète de la phase solide en un temps donné. La signification est presque la même, ou du moins on l'a admis jusqu'à présent, mais il serait peut-être prudent de faire à ce sujet, quelques restrictions, comme nous le verrons plus loin.

En général, l'expérience montre que la quantité d'ions amenant la floculation complète n'est pas indépendante de la concentration en colloïde. En effet la dilution entraîne l'écartement des particules et, par conséquent doit diminuer la probabilité d'adhésion. Mais en réalité le sens de la variation envisagée dépend à la fois de l'ion et du colloïde étudié. A ce point de vue les colloïdes lyophiles présentent une variabilité infinie.

Les différents moyens que la physique enseigne pour mesurer la charge électrique des micelles (cataphorèse, électroendosmose, potentiels d'écoulement, etc.) permettent de mettre en évidence dans quelques cas un potentiel critique au-dessous duquel la charge électrique ne saurait tomber sans que la floculation se produise (potentiel de la couche de contact). Il est peut-être utile de préciser quels sont les différents facteurs pouvant concourir à l'établissement de ce potentiel. L'intervention de potentiels de contact d'origine variée ne peut se concevoir que dans le cas de la présence de deux phases distinctes. Il faut faire remarquer que l'établissement du potentiel critique doit probablement être plus compliquée que ne le suppose Kruyt (82). En effet, il faut réserver la possibilité d'intervention des différents phénomènes électrocapillaires suivants ;

a) il y a tout d'abord, en dehors de tout transfert de liquide, un « potentiel de friction » (terme impropre dans ce cas) successivement étudié par Helmholtz — Picton — Linder — Lottermoser — Cohen — Brunninghaus — et qui peut se déduire de la « loi de Cohen » : « quand on met en contact deux phases » A et B quelconques, celle dont la constante diélectrique est la plus faible E se charge négativement », c'est-à-dire si $E_a < E_b$ on a A .

On déduit que si $Ea = Eb$ la charge est nulle, ce qui doit correspondre au point isoélectrique dans le cas d'un colloïde.

b A ce phénomène se superpose un potentiel dû aux ions provenant de la phase liquide baignant les interstices capillaires, et dont le rôle important a été étudié par J. Perrin.

Dans le cas des solutions aqueuses acidifiées, la phase solide se charge positivement. Dans cette conception, le potentiel de contact est nul lorsque le milieu dispersant est neutre ($pH=7$). Donc dans le cas de sérum floculé (au point isoélectrique) le rôle de ce potentiel doit être très important.

c) Un autre groupe de recherches dues à Duclaux, Michaelis, Loeb-Pauli — ont montré que la phase solide s'ionise elle-même : des ions d'un certain signe la quittent et elle retient l'équivalent d'ions de signe contraire. Les protéines en particulier doivent une grande partie de leur potentiel à ce phénomène. Dans cette dernière théorie, le point isoélectrique est donné par la constante de dissociation de la phase solide, et n'a aucun rapport avec la neutralité du milieu dispersant.

d) Enfin le phénomène de Donnan (3) intervient également pour conférer une certaine charge à la phase solide. On sait qu'une distribution inégale des électrolytes entre les deux phases implique un potentiel de contact. Or, Proctor et Wilson, puis Bigwod et Mestrezat ont montré qu'une membrane n'est pas toujours indispensable pour la mise en évidence de ce phénomène qui intervient en particulier dans le cas des gels protéiques ayant un ion commun avec la phase liquide en présence. A l'équilibre il existe un potentiel de la forme bien connue :

$$E = \frac{RT}{nF} \cdot \log \frac{C_1}{C_2}$$

C_1 et C_2 étant les « activités » de l'ion considéré dans les deux phases. Cette formule se ramènerait d'ailleurs à $E = 2,30 \times \frac{RT}{nF} [p H_1 - p H_2]$ pour un colloïde, en milieu acide, d'après Boutaric (18), mais des critiques ont été formulées par J. Duclaux (26) au sujet des hypothèses de départ.

Ces différents phénomènes interviennent d'une façon très inégale et difficile à apprécier dans le cas du sérum sanguin. Le rôle du potentiel de friction ne peut être évalué : la constante diélectrique du milieu dispersant doit être très inférieure à celle de l'eau pure (80), mais celle de la phase solide est totalement inconnue. Il se peut que son rôle ne soit pas négligeable, malgré la conductibilité spécifique importante de tous ces corps. De même les gels protéiques se produisant toujours en milieu d'acidité notable, l'intervention des ions du milieu dispersant a sans doute un rôle notable. Enfin l'ionisation des protéines *précipitées* joue un rôle prépondérant ainsi que l'équilibre de Donnan, dans les phénomènes de peptisation.

Soulignons que ces phénomènes interviennent sûrement dans le cas des gels protéiques et du sérum, coagulé, mais dans le *sérum normal*, leur intervention n'aura lieu que s'il existe des micelles à la surface desquelles joueront les forces électro-capillaires précitées, ce qui reste encore à démontrer.

Actuellement on doit admettre semble-t-il, d'après ce qui vient d'être dit, que les particules colloïdales possèdent une charge électrique e par unité de surface, à laquelle fait équilibre une autre charge complexe qui n'est pas répartie comme l'imaginait Helmholtz. Cette dernière charge constitue une atmosphère ionique diffuse, une partie étant étroitement adhérente à la particule elle-même, l'autre partie, peut-être de signe contraire, étant localisée dans le liquide intermicellaire immédiatement au voisinage de la particule. Le potentiel qui régirait en définitive la stabilité serait égal à la différence entre ces deux couches, et l'on conçoit alors que, tant l'épaisseur de la double couche ainsi formée que son potentiel, dépendent dans une très large mesure de la nature des ions qui la constituent. Une fois de plus, nous voyons qu'il est impossible de caractériser un colloïde par une charge spécifique indépendamment du milieu de dispersion dans lequel il se trouve. Ces résultats sont surtout basés sur les travaux de Gouy (53) complétés par ceux de Stern (33).

Quant à la constitution intime et à l'épaisseur de la double couche, elle est connue pour un très petit nombre de suspensoïdes et à peine entrevue pour les émulsionsoïdes. Il est probable que les ions peuvent provenir à la fois du milieu externe et de la matière constitutive des micelles elles-mêmes, et l'influence de ce dernier facteur a peut-être été sous-estimée, si même il n'agit pas exclusivement dans le cas des protéines.

En définitive, les travaux les plus récents semblent bien indiquer que la stabilité des protéines, et du sérum sanguin en particulier ; se trouve sous la dépendance de leur concentration, de leur hydratation et de la quantité d'électrolytes présents, agissant, entre outre, sur la charge électrique des micelles, s'il en existe, mais les théories ne nous renseignent pas sur les dépendances qui peuvent exister entre ces facteurs.

Les conditions de stabilité du sérum sanguin sont cependant très importantes à connaître avec précision, car elles sont étroitement liées, par l'intermédiaire de l'équilibre acidobasique, à la nutrition des tissus et à ses nombreuses déviations pathologiques. Les troubles de la stabilité des protéines du sang sont généralement accompagnés de troubles de l'équilibre acido-basique, ce qui entraîne une perturbation profonde de l'hydratation de tout l'organisme. Cette conclusion ressort notamment des expériences de Martin H. Fischer. Cet auteur montra que le gonflement de la gélatine et des gels de fibrine est considérablement accru par addition de faibles quantités d'acide ou de base, jusqu'à un optimum, et il constata des différences selon la nature du colloïde et des ions en présence, et selon la concentration de ces corps. Il obtint d'ailleurs les mêmes résultats qualitatifs en étudiant l'imbibition des muscles de grenouille. Ces expériences ont été reprises et confirmées, notamment en France par H. Bernard et Biancani, et par P.-L. Violle (149). D'ailleurs J. Loeb (92) rapporte des conclusions identiques, et les mêmes faits relatifs au gonflement de la gélatine avaient été découverts à une date encore antérieure par Chanoz et A. Chevallier (26).

CHAPITRE II

ETUDE DE LA STABILITÉ DU SÉRUM ET DE QUELQUES AUTRES SOLS

La stabilité des colloïdes lyophiles est interprétée actuellement par deux théories opposées : la théorie colloïdale, tendant à prouver que ces corps sont constitués par des agrégats particuliers, et la théorie moléculaire admettant que ce ne sont que de simples dispersions moléculaires dont les propriétés spéciales dépendent uniquement de l'énorme taille des molécules constitutives.

Dans les deux théories, il faut toutefois admettre l'existence de relations très étroites entre ces corps et le liquide de dispersion. Dans le cas où l'on admet une structure micellaire, il est possible de montrer que la quantité d'ions présente et la teneur en eau influencent la stabilité du colloïde (page 79). Dans la théorie moléculaire par contre, la quantité d'ions doit avoir une influence prépondérante sur la stabilité et l'hydratation une moindre importance. Cependant il doit intervenir encore d'autres facteurs, car, jusqu'à présent il n'a pas encore été possible d'expliquer complètement les phénomènes par l'application de la loi d'action de masse aux ions seuls.

La difficulté provient à notre avis (du moins c'est l'idée qui nous a servi de point de départ) du fait que LES PRINCIPAUX FACTEURS CONDITIONNANT LA STABILITÉ DE CE CORPS NE SONT PAS INDÉPENDANTS LES UNS DES AUTRES, MAIS SONT RELIÉS ENTRE EUX ET A LA CONCENTRATION EN COLLOÏDE.

Nous avons tout d'abord cherché à préciser l'influence de hydratation et de la quantité d'ions sur la stabilité de quelques colloïdes nettement caractérisés, et en tenant compte de leur concentration respective. On a vu que les études sur la floculation par les ions ont permis de définir un potentiel critique duquel dépend la stabilité (page 81). Les recherches de Kruyt **82** Bungenverg de Jong (**23**), et Tendeloo (**136**) ont montré qu'il était également possible de définir une hydratation critique, qui, dans des conditions nettement déterminées, produit irrémédiablement la floculation. Toutes ces recherches portant sur la FLOCCULATION FINISSANTE, ont mis en évidence, entre l'hydratation et la charge électrique, des relations représentées par des courbes complexes difficiles à interpréter. Nous avons pensé que plusieurs phénomènes peuvent interférer à la fin de la floculation, et nous avons voulu étudier les conditions amenant LE DÉBUT de la floculation. D'ailleurs, si des phénomènes d'équilibre existent, ce qui a été avancé par quelques auteurs, ils ne peuvent logiquement être visibles qu'à ce moment, la floculation du sérum en particulier ne constituant pas essentiellement un phénomène IDEALEMENT REVERSIBLE.

Nous avons cherché à nous faire une idée de l'hydratation des colloïdes étudiés d'après la quantité de déshydratant nécessaire pour amener le début de la floculation. Comme déshydratant, nous avons employé l'alcool éthylique ayant la propriété de former avec l'eau un grand nombre d'hydrates régis par la loi d'action de masse. De plus, nous n'avons pas cru devoir utiliser la notion de

« nombre d'alcool » selon J. Lœb (94) : nombre de cc. d'alcool qui doit être ajouté à un certain volume de colloïde pour en provoquer la floculation complète, car cette définition implique *a priori* une relation linéaire entre le phénomène et le paramètre considéré, relation qu'il importe précisément de préciser.

Dans le cas du sérum de mammifères, l'addition, d'alcool, d'acide ou des deux simultanément, provoque toujours la même succession de phénomènes. Les faibles quantités d'alcool ont tout d'abord peu d'action sur l'aspect du liquide. Puis à mesure que la concentration croît, la viscosité diminue de plus en plus rapidement. Enfin, pour une concentration suffisante, la floculation débute à peu près brusquement, le liquide restant encore très fluide. Si la concentration d'alcool augmente encore l'opalescence du liquide s'accroît considérablement et, pour le sérum non dilué, on peut obtenir un véritable gel opalin.

Le floculat, précipité léger ou gel épais, est toujours redispersable par dilution avec de l'eau.

Par addition de très faibles doses d'acide, il ne se produit d'abord rien dans le sérum, à cause de la présence de tampons. À mesure que l'acidité augmente, le pH baisse ensuite de plus en plus vite ; puis assez brusquement, pour des concentrations de quelques millièmes de molécules par litre, la floculation débute. Le floculat obtenu augmente d'abord d'opacité avec la concentration en acide, puis régresse très rapidement, et pour une concentration suffisante en acide, il se redissout très brusquement : on dit qu'il y a *peptisation*. La différence entre les concentrations en acide produisant la floculation et la peptisation est généralement très petite et bien constante pour un sérum donné, comme nous le verrons plus loin. Le liquide reste ensuite limpide jusqu'à de très grandes concentrations en acide ; finalement se produit une dernière floculation irréversible et le sérum se trouve définitivement détruit.

La succession de phénomènes est essentiellement la même pour les solutions d'ovalbumine et de gélatine, mais pour d'autres colloïdes il peut en être autrement. C'est ainsi que dans le cas de la solution de gélose (agar-agar) la peptisation n'a jamais lieu par aug. de la C° des ions.

W. Kopaczewski a signalé (75) sous l'influence de l'acide lactique une gélification particulière du sérum qui forme une masse épaisse opalescente. Vraisemblablement ce phénomène ne diffère pas, dans son essence, de la floculation ordinaire. Au cours des expériences que nous allons rapporter, il nous a été donné de l'observer souvent sous l'influence de l'acide sulfurique employé, et surtout en présence d'alcool : l'évolution s'est toujours faite selon le schéma décrit plus haut et la peptisation de ces gels n'a pas présenté de particularités, par comparaison avec les autres cas que nous rapporterons (page 86). Il semble que la formation d'un gel soit favorisée par une déshydratation assez avancée du sérum. Nous reviendrons sur ce point (page 137).

42. *Méthode d'observation.* — Il est possible d'observer le début de la floculation en examinant les tubes sur fond noir. L'idéal serait évidemment de faire les mesures à l'ultra-microscope, ainsi que pratique Bachmann au cours de ses études sur la floculation de la gélatine, ou encore d'utiliser un néphélémètre

(Verne (145) quoique cette dernière méthode soulève de nouveaux problèmes.

Ne disposant pas du matériel nécessaire, nous nous sommes contentés de placer les tubes dans un bloc de bois portant les trous nécessaires, noircis intérieurement, et de les éclairer de telle façon qu'aucun rayon direct ne puisse arriver à l'œil. En examinant simultanément trois tubes voisins dans les séries de concentrations réalisées, il est possible de saisir avec une précision suffisante l'apparition du trouble persistant très léger annonçant le début de la floculation.

Pour certains liquides naturellement opalescents glycogène, ovalbumine, le début du phénomène se manifeste par une brusque augmentation du léger louche visible dans tous les tubes. Pour tous les corps envisagés dans cette étude, la vitesse de la floculation dépend dans une large mesure de la quantité de réactif ajouté. Mais c'est surtout la vitesse d'apparition de la fin du phénomène qui se trouve influencée : dans le cas du sérum sanguin, cette vitesse augmente très vite avec l'acidité. Au contraire, il est remarquable que la vitesse d'apparition du début de la floculation soit très peu influencée par les conditions expérimentales. Il est néanmoins nécessaire de prendre la précaution d'attendre, avant d'observer le contenu des tubes, au moins trente minutes après leur réparation. Par contre une attente supérieure à trois heures risquerait d'introduire des erreurs, car les liquides louches obtenus se modifient toujours lentement avec le temps.

La vitesse d'apparition du début de la floculation étant très peu influencée par les conditions expérimentales, nous n'avons pas cru nécessaire d'opérer à température rigoureusement constante. Au cours de nos expériences la température a varié de 16 à 20 degrés, la variation pouvant atteindre 0,5 degrés au cours d'une même série de mesures. Cependant des mesures effectuées à 37, 48 et 56° donneraient peut-être des résultats intéressants : il serait par exemple utile, pensons nous, de déterminer le coefficient de température de ces réactions : nous entreprendrons cette étude ultérieurement, car elle dépasse le cadre que nous nous sommes fixés pour l'instant.

43. *Etude de l'hydratation.* Nous avons déterminé préalablement comment varie la quantité d'alcool cherchée en fonction de la concentration finale en colloïde. Voici les résultats de quelques expériences : Pour un sérum de cheval à 18 degrés :

On peut voir sur le graphique n° 13 que la relation entre la concentration en alcool et la concentration en sérum n'est pas linéaire, ce qui justifie nos réserves relatives au « nombre d'alcool » (page 80). Nous avons calculé (troisième colonne) le rapport des concentrations finales en sérum et en alcool en équilibre au début du phénomène : ce rapport doit donc varier en sens inverse de l'hydratation du sérum. On peut voir d'après cela que l'hydratation du sérum dépend

C° finale sérum	C° finale alcool	$\frac{\text{C° sérum}}{\text{C° alcool}}$
2%	68%	0,03
4	65	0,06
7	61	0,11
11	58	0,19
14	55	0,25
18	53	0,33
24	48	0,50
29	47	0,61
32	46	0,69
37	45	0,86
41	43	0,95
44	44	1,00
50	42	1,19
56	40	1,40
62	37	1,67

TABLEAU 34 .

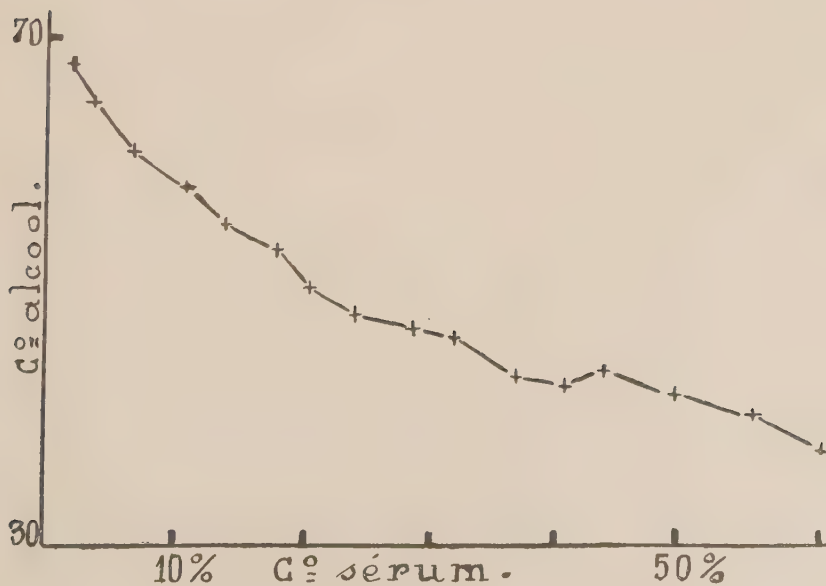


FIGURE 13

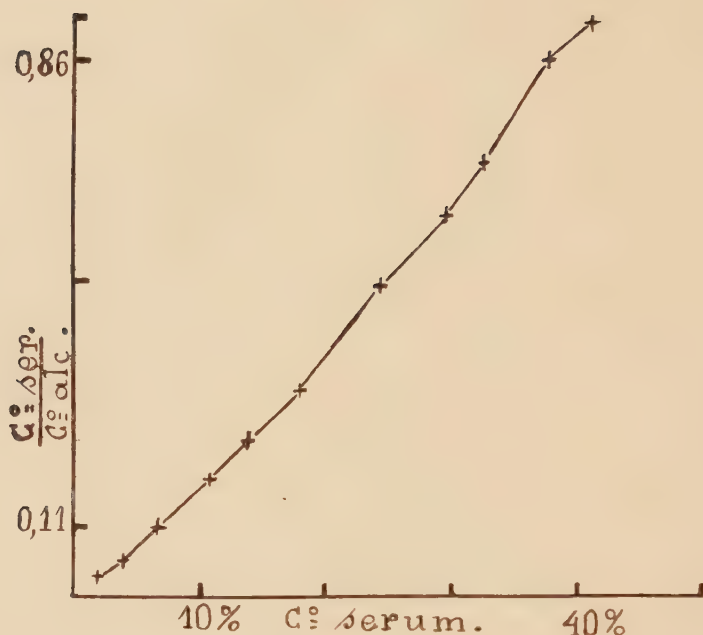


FIGURE 14

nettement de sa concentration, et augmente quand celle-ci diminue. La représentation graphique (fig. 14) montre que l'on a sensiblement :

$$\frac{C^{\circ} \text{ sér.}}{C^{\circ} \text{ alcool}} = K. C^{\circ} \text{ sér.} \quad (31)$$

Nous avons répété cette expérience une douzaine de fois sur des sérums de cheval, humains, et sur six sérums de lapin : les résultats ont toujours été identiques.

Voici le cas d'un sérum humain dont l'état pathologique n'a pu être précisé, en présence d'une quantité constante de SO^4H^2 N/50 (tableau 35).

De même un autre sérum de cheval tyndalise nous a donné les résultats suivants, en présence de SO^4H^2 N/850 à C° constante (tableau 36).

Des faits analogues se rencontrent avec d'autres substances. Pour une solution d'ovalbumine commerciale à 1,6%, dans l'eau distillée pour laquelle nous avons un poids spécifique de 1,014 à 18° dans le vide, nous avons obtenu les résultats suivants (présence de SO^4H^2 N/1000 (tableau 37)

Ici encore l'hydratation diminue quand la concentration en albumine augmente, et la relation est linéaire. Dans le cas des solutions d'ovalbumine il est difficile de poursuivre l'investigation en dehors des limites précédentes car, pour les faibles concentrations la précision des mesures baisse très rapidement, le louche devenant à peine perceptible, tandis que pour les fortes concentrations, l'opalescence naturelle du liquide gêne beaucoup l'observation. L'ovalbumine

C° finale sérum	C° finale alcool%	$\frac{\text{C° sérum}}{\text{C° alcool}}$, en vol.
5%	14%	0,3
8	16	0,5
13	19	0,6
15	21	0,7
18	21	0,8
21	24	0,8
22	26	0,85
3,8%	14%	0,17
11,3	20	0,56
15	21	0,71
21	23	0,91
31	23	1,30
42	24	1,80
54	25	2,30

TABLEAUX 35 ET 36 .

C° finale relat. en vol. albumine	C° finale alcool	$\frac{\text{C° album.}}{\text{C° alcool}}$, en vol.
0,15%	58%	0,2
0,21	52	0,4
0,28	47	0,6
0,36	43	0,8
0,44	39	1,1
0,54	33	1,6
0,68	24	1,9

dont nous nous sommes servie flocculait, d'ailleurs pour de très faibles quantités d'acide et sa peptisation était très difficile à obtenir : il y a à ce point de vue une grande variabilité entre les différents échantillons commerciaux.

La gélatine se comporte de la même façon. On sait que ce colloïde chargé négativement, toujours acide au tournesol même en l'absence rigoureuse d'électrolytes, à son point isoélectrique au voisinage de pH 4.7. Voici les résultats obtenus à partir d'une solution à 0,8%, à 17 degrés ; en l'absence rigoureuse de tout acide.

C° relat. fin. en vol. gélatine	C° finale alcool.	C° gélat., en vol. C° alcool
0,02%	0,72	0,02
0,06	0,66	0,08
0,10	0,64	0,15
0,14	0,62	0,22
0,20	0,59	0,33
0,25	0,58	0,42
0,31	0,56	0,55
0,35	0,55	0,63
0,41	0,53	0,77
0,54	0,46	1,10

TABLEAU 38

Pour un sol de glycogène légèrement opalescent nous avons trouvé, en présence d'une quantité constante de $\text{SO}^4\text{H}^2 \text{ N } 400$, à 17 degrés : (tableau 39).

Ici la concentration finale d'alcool varie peu avec la concentration en colloïde : elle reste sensiblement constante aux faibles C° en glycogène puis varie ensuite en sens inverse de cette dernière. On voit sur le graphique n° 15 que la relation entre le rapport des concentrations volumétriques des liquides employés et la concentration en colloïde peut encore se définir de la même façon que précédemment, par une équation linéaire.

Nous avons examiné également le comportement des solutions de gélose. La gélose est un glucoside dispersable dans l'eau en toutes proportions, en milieu acide ou basique. Il est flocculable par les cations lorsque son hydratation est faible, mais les ions ne le flocculent jamais seuls. Pour ce corps, l'observation du

C° finale en glycogène	C° finale alcool	$\frac{\text{C° glycog.}}{\text{C° alcool}}$ en vol.
0,006gr.‰	49%	0,03
0,012	47,9	0,04
0,19	48	0,08
0,62	48	0,20
0,102	51	0,40
0,110	51	0,46
0,127	47	0,54
0,151	48	0,62
0,176	46	0,72
0,196	44	0,73
0,217	45	1,04

TABLEAU 39 .

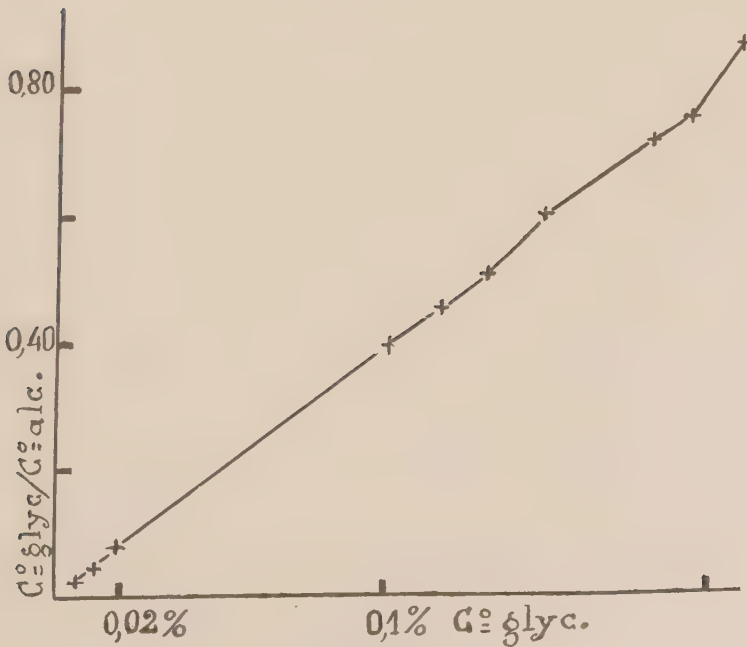


FIGURE 15

début de la floculation est extrêmement délicate, à cause de la très faible différence d'indice de réfraction entre le floculat et le liquide restant ; nous avons dû effectuer de très nombreuses séries de mesures avant d'acquérir l'habitude de percevoir le début du phénomène avec une précision suffisante et de pouvoir nous faire une opinion.

Voici, à partir d'une solution à 0,1% (poids spécifique à 15° dans le vide : 1,009), les résultats obtenus. L'expérience a été poursuivie en présence d'une quantité constante de NaOH N30, dans le but simplement de diminuer la quantité d'alcool nécessaire. Si en effet, on dilue trop le liquide, le début de la floculation devient impossible à percevoir et l'étude nécessiterait l'intervention de moyens plus délicats.

C° finale en gr. gélose	C° finale alcool	C° gélose, en vol. C° alcool
0,008%	0,73	0,01
0,02	0,73	0,02
0,05	0,75	0,06
0,08	0,76	0,10
0,10	0,76	0,13
0,11	0,75	0,14
0,14	0,76	0,18
0,17	0,77	0,22

TABEAU 40

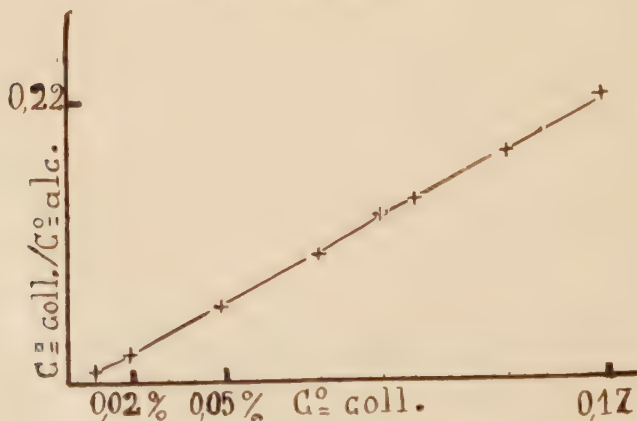


FIGURE 16

La marche du phénomène ne diffère pas de ce qui a lieu pour les corps précédents (graphique n° 16). Cependant l'interprétation de ces derniers résultats devra être prudente, car la gélose n'est pas amphotère, ainsi qu'il ressort des expériences de Pridaux et Howitt — Trans (123), car ces auteurs ont constaté que le pH ne modifie pratiquement pas sa vitesse d'électrophorèse (mise en évidence par la présence d'or colloïdal absorbé).

En définitive, l'étude des conditions d'apparition du début de la floculation nous montre que, pour les corps étudiés, l'hydratation semble varier en sens inverse de leur concentration, et qu'il existe une relation linéaire entre ces deux grandeurs.

On peut concevoir que plus les molécules du corps étudié sont nombreuses dans la solution, plus grande est leur difficulté à fixer l'eau nécessaire à leur hydratation ; ou si l'on veut, qu'il y a une sorte de partage de l'eau entre les molécules en présence. Nous examinerons plus loin où peuvent conduire ces considérations.

41. *Influence des électrolytes.* — Voyons maintenant comment peuvent intervenir les ions de signe contraire à celui des corps on expérience. Pour ne pas compliquer l'interprétation des résultats, nous avons borné notre recherche actuelle à l'étude des ions H et OH. Les nombreuses recherches sur la stabilité des colloïdes ont en effet, montré que l'emploi des sels métalliques conduisait toujours aux mêmes résultats généraux bien que les particularités propres à chaque métal viennent souvent compliquer les phénomènes. Nous nous réservons d'ailleurs d'examiner ultérieurement l'action de certains sels et de généraliser si possible les résultats contenus dans le présent travail.

Pour étudier l'influence des ions H et OH, il est nécessaire de faire varier l'acidité des liquides étudiés, et de faire pour chaque acidité, une série de mesures de la quantité d'alcool amenant le début de la floculation pour différentes concentrations en colloïde. Pratiquement, les expériences ont été conduites de la façon suivante. A partir d'un même échantillon du corps étudié, on prépare 6 à 8 séries de 10 tubes, chaque série correspondant à une certaine concentration en colloïde, et dans chaque série on fait varier la concentration en acide ou en base, tout en maintenant constant (par adjonction d'eau distillée) le volume initial : colloïde plus acide ou base. Après adjonction de la quantité d'alcool cherchée, il est facile de choisir entre les chiffres obtenus, ceux qui correspondent à une identique concentration finale en colloïde, ou en acide ou base, selon les cas.

Le tableau n° 41 contient les résultats d'une série de déterminations faites sur un même sérum de cheval. L'expérience a d'ailleurs été répétée sur 10 échantillons différents et deux sérums humains, les résultats étant toujours qualitativement identiques.

Concentration en sérum p. 100.													
Acidité	3	4	7	9	10	11	12	15	16	17	19	20	21
N/∞	4		11			19			32				
N/5000		7		16						35			
N/1428					21		25				45		
N/833							37					51	
N/588								49					60

Concentration en sérum p. 100.													
Acidité	23	29	31	32	33	35	36	39	41	42	43	44	
N/∞	47		64			78							
N/5000				68					91				
N/1428					76			86		97			
N/833							90				103		
N/588		83						102				110	

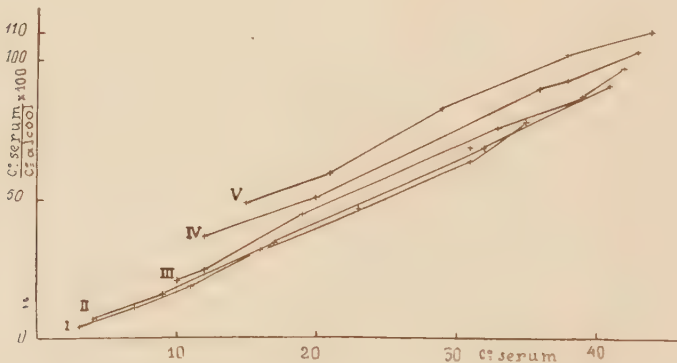


FIGURE 17

L'expérience ne peut naturellement être poussée très loin du côté des fortes concentrations en sérum, car en l'absence d'acide il faut une quantité relativement grande d'alcool pour amener le début de la flocculation. Au contraire, pour les fortes acidités, l'expérience ne peut être poussée du côté des faibles concentrations en sérum car la quantité d'acide amenant à elle seule la flocculation varie parallèlement à la concentration en sérum, et nous préciserons ce dernier point plus loin (page 113).

Ces résultats sont représentés sur le graphique n° 17. On voit que l'augmentation de l'acidité se traduit par une diminution de l'hydratation : à concentration égale en sérum au début de la flocculation, le rapport sérum alcool augmente, mais les variations de ce rapport en fonction de la concentration en colloïde conservent toujours le même aspect : la droite représentative reste parallèle à elle-même, subissant une simple translation.

Le phénomène est général. Voici par exemple le cas d'un sérum humain, à la concentration finale de 5%.

C° finale SO ₄ H ₂ N/50 en vol%	C° finale alcool	C° sérum , en vol. C° acide
0,005	0,7	0,05
0,006	0,65	0,06
0,008	0,60	0,08
0,010	0,55	0,10
0,020	0,48	0,14

TABLEAU 42

Il en est de même pour d'autres colloïdes. Voici les résultats concernant une solution d'ovalbumine à la concentration finale de 1,5%.

8

C° finale SO ₄ H ₂ N/100 en vol.	C° finale alcool	C° album., en vol. C° alcool
0,01%	0,07	4,2
0,02	0,06	5,0
0,04	0,05	6,0
0,06	0,06	5,0
0,09	0,04	7,5

TABLEAU 43

De même pour une solution de gélose à la concentration finale de 0,02 gr. % à 17 degrés :

C° finale NaOH N/I en vol.%	C° finale alcool	C° gélose , en vol. C° alcool
0,007	78%	0,12
0,04	73	0,13
0,07	68	0,14
0,10	66	0,15

TABLEAU 44.

Enfin pour une solution de glycogène à la concentration finale de 0.017 gr. % : nous avons trouvé :

Acidité	C° finale-alcool
So ⁴ H ² N/850	0,9 %
↓	↓
N/75	0,8 %

TABLEAU 45

On voit que la quantité d'alcool cherchée ne dépend pour ainsi dire pas de l'acidité ; notons d'ailleurs que l'acide ne peut amener seul la floculation du glycogène. Il semble que pour ce corps, la quantité d'alcool varie uniquement en raison inverse de la C° en glycogène, surtout si celle-ci est assez forte. Ces mesures sont donc en accord avec des travaux déjà cités (page 80) montrant, à la suite de mesures directes, que le rayon des particules, s'il y en a, ne dépend pas de la C° en ions de la solution. Nous pouvons ajouter à cette conclusion que, pour ce corps, l'hydratation est uniquement fonction de la concentration en glycogène et varie peu avec elle.

Il faut remarquer d'ailleurs que, dans le cas des substances pour lesquelles l'hydratation est incapable d'assurer à elle seule la stabilité (solutions protéiques en général), la quantité d'acide amenant le début de la floculation dépend de la concentration en colloïde.

Ce fait est à rapprocher des observations de Pauli et Samec (137) montrant que le pH à la floculation dépendait lui-même de la concentration en colloïde dans le cas des protéines. Nous verrons plus loin ce que l'on peut penser de ce dernier fait (page 108). Voici à ce sujet quelques séries de mesures portant simplement sur la concentration d'acide, juste floculante en fonction de la concentration en colloïde, en l'absence d'alcool.

Sérum de cheval âgé, à 21 degrés :

C° en sérum	C° relat. en vol. de SO ₄ H ₂
3%	3%
6	3
10	6
13	13
21	18
28	24
31	29
32	34

TABEAU 46

C° sérum	C° relat. en vol. SO ₄ H ₂ N/50	::	C° sérum	C° relat. en vol. SO ₄ H ₂ N/50
3%	3%	::	28	21
7	3	::	30	24
11	7	::	33	24
14	7	::	38	26
17	13	::	39	28
20	16	::	40	29
22	19	::	42	28
23	19	::	44	30

TABEAU 47 .

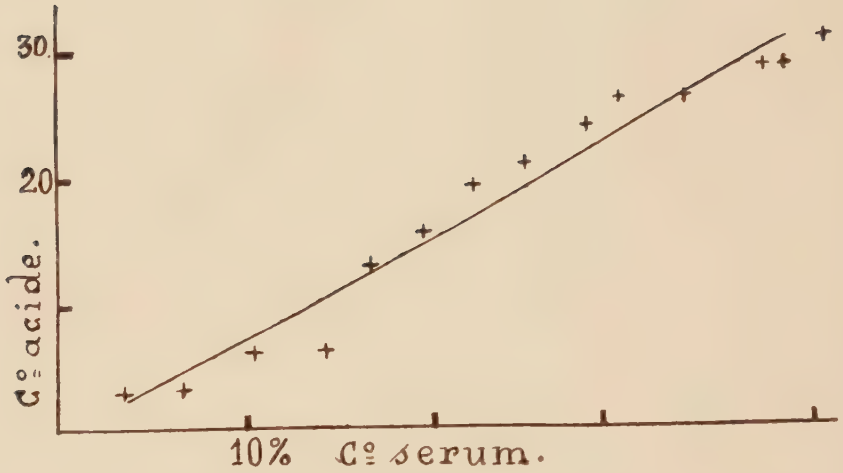


FIGURE 18

L'allure du phénomène est représentée sur le graphique n° 18.

Un sérum de cheval conservé 7 ans en ampoules scellées a donné les résultats suivants :

C° en sérum	C° relat. en vol. SO ₄ H ₂ N/50
4%	13%
13	9
20	16
26	26
30	33
33	39
39	42
40	45
41	51
42	53
44	57

TABLEAU 48

Pour un autre sérum de cheval, de 6 mois on a obtenu :

C° sérum	C° relat? en vol. SO ₄ H ₂ N/50
4%	2%
6%	4
9	5
18	9
24	18
36	27
51	44

TABLEAU 49 .

De même pour un autre échantillon de sérum de cheval analogue au précédent nous avons obtenu :

C° sérum	C° fin.relat. en vol.SO ₄ H ₂ N/50
4%	4%
17	7
23	23
26	41
31	42
36	50
41	55

TABLEAU 50 .

Pour une solution d'ovalbumine à 5% nous avons obtenu les résultats suivants (tableau 51 et fig. 19) :

C° finale en albumine	C° fin.relat. en vol.SO ₄ H ₂ N/50
12%	1,0%
24	1,2
40	1,9
61	2,3

TABLEAU 51 .

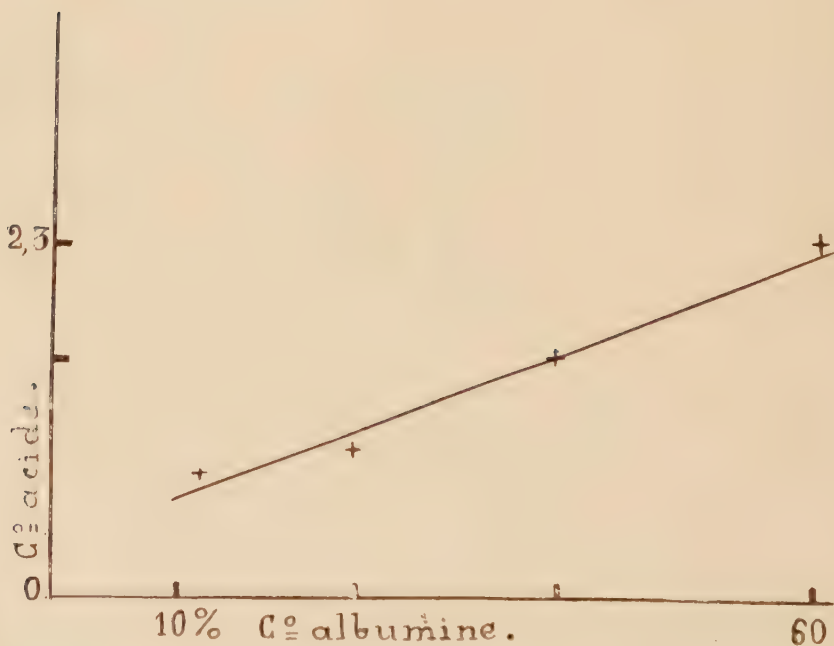


FIGURE 19

(les chiffres intermédiaires ont été supprimés pour abrégé).

Dans le cas des solutions de glycogène et d'agar l'expérience ne peut naturel-

lement être tentée, puisque les ions employés seuls n'amènent jamais la floculation.

Comme on le voit sur les différents graphiques correspondant à ces expériences, la variation de la concentration finale d'acide amenant le début de la floculation est linéaire en fonction de la concentration en colloïde, dans les limites envisagées ici.

En outre, il apparaît nettement que le rapport C° col./ C° acide présente, en fonction de la concentration en colloïde, un maximum situé, dans le cas du sérum, au voisinage de la concentration de 20% (plus ou moins 5% avec la faible précision de nos mesures). Remarquons que pour des concentrations voisines, nous avons déjà observé une modification dans l'allure de la variation de l'indice de refraction (page 39). L'existence de ce maximum, bien connu pour la floculation complète, est intéressante à constater au début de la floculation, et serait à rapprocher de la règle de peptisation de Ostwald (115) ainsi que l'a suggéré Malfitano (d'après Haissinsky : 58).

En présence de ces faits nous avons cherché à préciser quantitativement l'influence de la concentration en acide sur la quantité d'alcool juste floculante. Il nous a semblé que la considération du rapport des concentrations volumétriques : alcool/acide, réalisées au début de la floculation pouvait donner une idée de ces relations, tout comme le rapport : Colloïde/Alcool donne une idée de l'hydratation.

Nous avons donc entrepris de nouvelles séries de mesures, toujours avec la même technique, dans le but de déterminer comment varie le rapport des concentrations finales : Alcool/acide, et, pour la commodité, nous continuerons à calculer les résultats à partir des concentrations volumétriques des solutions employées.

Nous donnons dans le tableau 52 les valeurs de ce rapport, en fonction de la concentration en acide finale, pour différentes concentrations d'un même sérum de cheval (conservé quelques mois en ampoules scellées et stériles).

C° relat. en vol SO ₄ E ₂ N/1000	::	Rapport: alcool/ acide pour des C° en sérum de:			
		16%	20%	35%	40%
3%	::	150	155	160	180
5	::				86
7	::	59	59	60	
8	::				52
11	::				38
12	::		32	33	
13	::	25			23
17	::		23	22	
25	::		20	19	

TABLEAU 52



FIGURE 20

Le phénomène est représenté sur le graphique n° 20.

Un échantillon de sérum humain nous a donné les résultats contenus dans le tableau n° 53 ; et le graphique n° 21 :

C° relat. en vol. % de SO ₄ H ₂ N/1000	Variation du rapport pour des concentrations relat. en vol. de sérum de :		
	15%	27%	40%
3%	166	163	147
6		81	
7	62		
8			47
10		47	
11	37		37
14	20	26	
15			26
20			10
23		13	

TABLÉAU 53

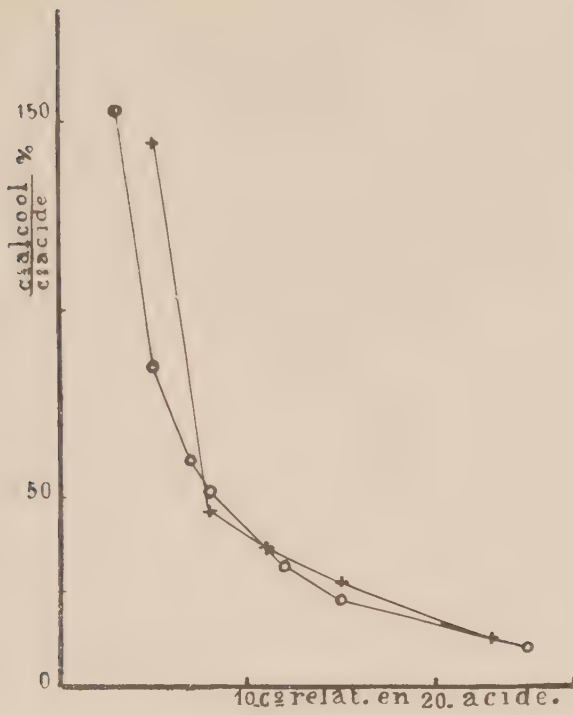


FIGURE 21

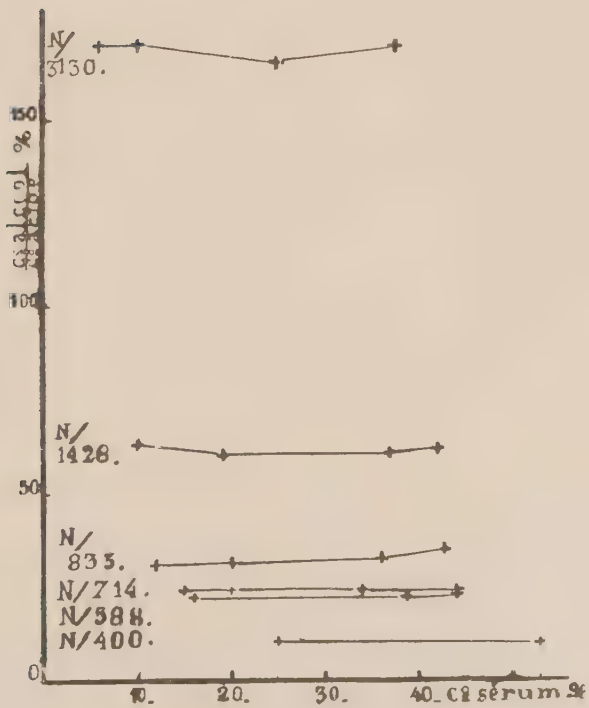


FIGURE 22

On remarque de suite que le rapport considéré est indépendant de la concentration en sérum (sauf peut-être pour les très faibles concentrations). Cette conclusion est particulièrement évidente si l'on exprime les résultats précédents en fonction de la concentration en sérum, pour différentes acidités. On obtient alors le graphique n° 22.

Ce dernier fait nous a semblé important par la signification théorique qu'il peut avoir. Aussi l'avons-nous recherché sur les autres substances faisant l'objet de cette étude.

Voici les résultats d'une série de mesures faites sur une solution de gélose à 0,1 gr. % dans l'eau. La concentration finale est ici 0,01 gr. % (tableau 54).

C° relat. en vol NaOH N/I	Rapport: alcool/ base
3	75
4	18
7	9,5
10	6,7
15	4,1
18	3,2

Une série de mesures nous donne en fonction de la concentration en colloïde, et pour deux basicités différentes, les chiffres contenus dans le tableau n° 55.

C° relat. en vol.: gélose à 1/00	Rapport: alcool/ base pr. NaOH N/25 : pr. NaOH N/20
0,8%	14,5
2	14,5
5	15
7	19
10	14,7
15	19
20	15 18,7
25	18,9

Une série de mesures sur une solution d'ovalbumine à 5% a donné les chiffres du tableau n° 56, à 18 degrés, la concentration finale en albumine étant constamment de 1,3 gr. %.

C° relat. en vol. SO ₄ H ₂ N/50	Rapport
1%	70
2	30
4,5	10
5,5	9
9	5,5
15	4

TABLEAU 56 .

Enfin pour une solution de glycogène de concentration finale 0,1 gr. % à 17 degrés, les résultats ont été les suivants : tableau 57.

C° relat. en vol. SO ₄ H ₂ N/50	<u>alcool</u> <u>acide</u>
3%	22
4	10,5
6	6,8
8	5,2
10	4,1
12	3,4
14	2,9
16	2,4
18	2,1
20	2,0
22	1,9
25	1,8

TABLEAU 57 .

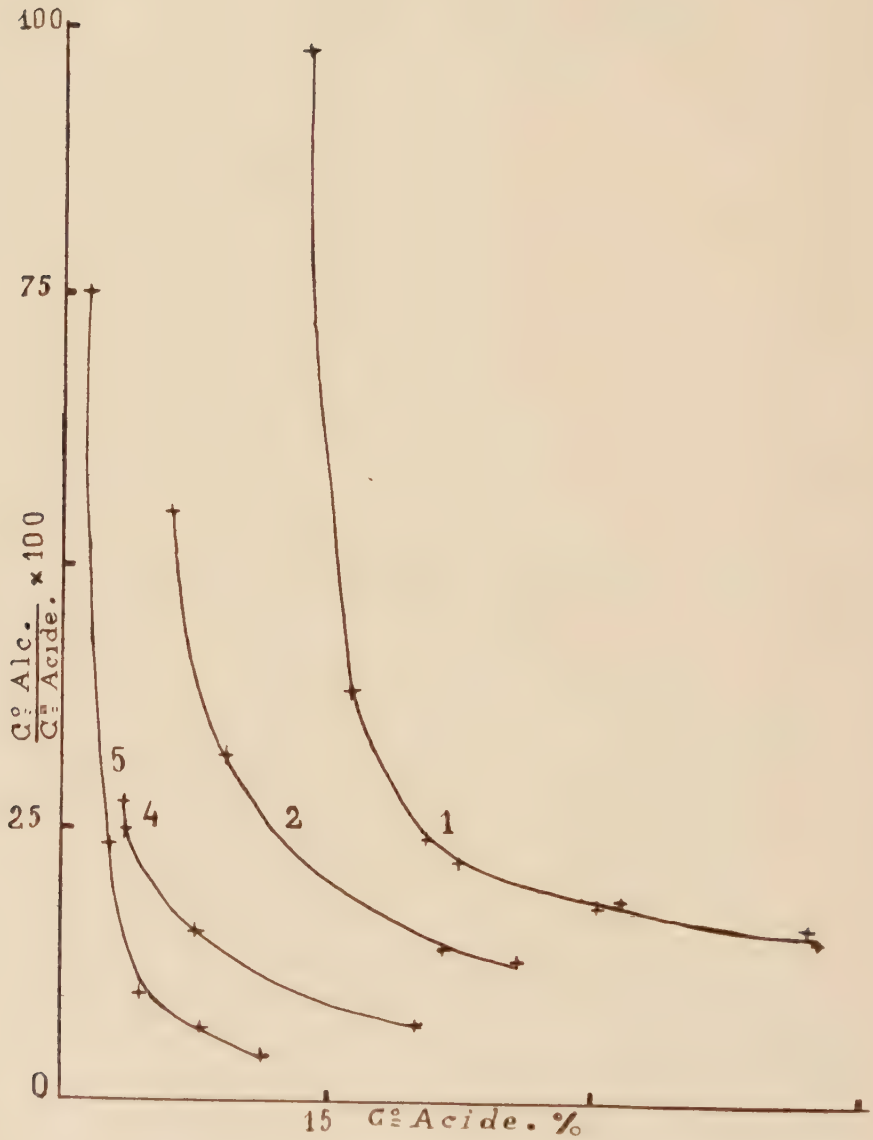


FIGURE 23

- I. Sérum de cheval pur.
- II. Solution de glycogène (ph voisin de 8).
- III. Solution de gélose en milieu basique.
- IV. solution d'ovalbumine (en présence de SO_4H_2 N/200).

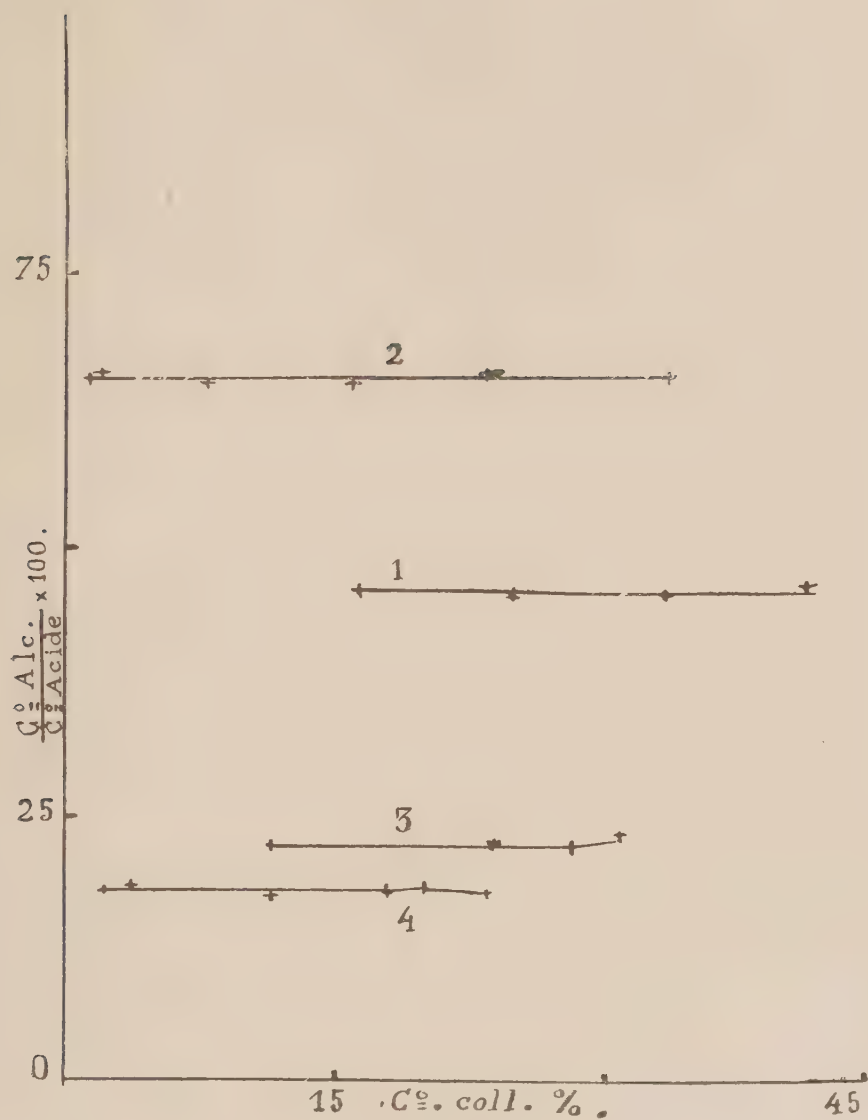


FIGURE 24

- I. Sérum de cheval pur.
- II. Solution de glycogène (ph voisin de 8).
- III. Solution de gélatine.
- IV. Solution de gélase en milieu basique.

On voit que la courbe représentative conserve toujours le même aspect que pour les substances précédemment étudiées (fig. 23).

Enfin, pour une solution de glycogène à 0,5% nous avons obtenu en fonction de la concentration en glycogène les résultats pour trois acidités différentes (tableau 58).

C° relat. en vol. : S04H2 N/50 :	Variations du rapport: alcool/ acide pour des acidités de :		
	N/500	N/550	N/650
0,6%	44,5		
1,1	44,5		
2	44,1	43	
5	44,5	43,5	40,2
10		43,5	40,0
15			40,3
20			40,0

TABLEAU 58 .

L'ensemble de ces observations se trouve résumé sur les graphiques nos 23 et 24.

Voyons maintenant comment il est possible d'interpréter ces résultats.

45. *La stabilité des protéines et la loi d'action de masse.* — Les partisans de la théorie colloïdale des protéines s'appuient principalement sur l'argument suivant : l'application de la loi d'action de masse à la dissociation des amino-acides conduit à la conclusion que leur point iso-électrique doit être indépendant de la concentration, ce qui est en contradiction avec l'expérience (Pauli et Samet 117).

Krulyt pose *a priori* que, la dissociation de l'eau étant représentée par :

$$[H] \times [OH] = Kw = 0,64.10^{-4} \quad (1) ;$$

pour un amino-acide en milieu acide on aura

$$[H] \times [R] = Ka. C_1R \quad (2)$$

et en milieu basique

$$[OH] \times [R] = Kb. C_2R \quad (3)$$

où $C_{1,2}$ R est la concentration des molécules non dissociées. En général $Ka = Kb$. Au point iso-électrique l'auteur remarque que :

$$R = R^+$$

et il tire

$$[H]/[OH] = Ka/Kb \quad (4)$$

et finalement en rapprochant de (1) :

$$[H]^2 = Ka \cdot Kw/Kb, \quad (5)$$

expression dans laquelle ne figure pas la concentration en amino-acide.

Mais en toute rigueur, il faut tenir compte, non de la concentration des ions et des molécules, mais des activités « *a* » des substances envisagées, le sérum sanguin et les solutions étudiées n'étant pas en pratique, infiniment dilués : on sait en effet, que l'on a : $a = m$ seulement pour : $m \rightarrow 0$ (m = molarité).

De sorte que, au point iso-électrique on peut avoir :

$$aR^- = aR$$

sans que pour cela $R^- = R^+$. Dans ce cas on n'aura donc pas non plus :

$$C_1R = C_2R;$$

la relation (4) deviendra : $[H^+][OH^-] = (Ka/Kb) \times (C_1R/C_2R) = (Ka/Kb) \cdot A$, et finalement :

$$[H^2] = A \cdot Ka \cdot Kw/Kb \quad (6)$$

A étant un terme correctif dépendant de la concentration en amino-acide, de même que les activités correspondant à R^- et R^+ dépendent elles-mêmes de cette concentration.

En définitive, la théorie n'implique nullement que la concentration des ions hydrogène au point iso-électrique soit indépendante de la concentration en colloïde dans le cas de ces substances amphotères. Les conclusions précédentes provenaient simplement d'une utilisation incomplète des données de la thermodynamique. Conformément à ceci, S. Filitti a vu que le *pH* d'une solution colloïdale baisse par augmentation de la C^0 en colloïde (34).

Il est d'ailleurs possible de conduire le raisonnement plus loin en appliquant la loi de dilution.

Soit d' le degré de dissociation d'une molécule amphotère en milieu acide et d'' en milieu basique, la concentration finale en molécules étant Co ; on a $d' = d''$. On peut écrire successivement :

$$\text{en milieu acide : } \frac{Cod'H \times Cod'R^-}{Co(1-d')} = Ka \quad (7)$$

$$\text{en milieu basique : } \frac{Cod''OH \times Cod''R^+}{Co(1-d'')} = Kb \quad (8)$$

Au point iso-électrique on doit avoir, en première approximation :

$$Cod'^-R = Cod''R^+$$

On tire : $(Cod'H/Cod''OH) \times (Co(1-d'')/Co(1-d')) = Ka/Kb$

puis en tenant compte de (1) :

$$[H^2] = (Kw/Kb) \cdot (Ka/d' = Ka) \times (1/Co \cdot (1-d'')) \quad (9)$$

Les corps étudiés sont probablement peu dissociés, et sont généralement considérés à des concentrations relativement faibles étant donné l'énormité de leur poids moléculaire : par conséquent les valeurs de Ka , Kb , d' et d'' doivent

varier assez peu en fonction de la concentration C%. On voit d'après cela que la concentration des ions H au point iso-électrique doit varier en sens inverse de la concentration en colloïde, ou en d'autres termes, que le pH doit varier parallèlement à cette même concentration. La relation sera naturellement inverse en milieu alcalin, ce qui correspond bien aux résultats trouvés par Filitti.

De même M. Piettre (119) constate que, dans les solutions de myxoprotéine du sérum sanguin, le pH varie moins vite que la concentration de l'acide ajouté : pour une même quantité d'acide, le pH est plus grand l'acidité plus faible qu'en l'absence de protéine.

Il serait intéressant d'avoir à ce sujet des mesures de pH au point iso-électrique en fonction de la concentration en protéine.

Les mesures rapportées précédemment, de la concentration d'acide finale amenant le début de la floculation (voisinage du point iso-électrique en fonction de la concentration en colloïde, donnent quelques précisions sur cette manière de voir. Nous rapportons dans le tableau 59 les valeurs du rapport des concentrations relatives volumétriques finales : Colloïde/Acide, calculées à partir des résultats des expériences correspondant aux tableaux 41, 42, 46, 47, 52, 53.

C° vol. relat. colloïde	Variation du rapport: colloïde/acide :					
	Tabl.46	Tabl.47	Tabl.41	Tabl.42	Tabl.52	Tabl.53
3%	1		1			
4		0,3		1,0	1,0	
6	2			1,5		
7			2,3			
9				1,8		
10	1,6					
11			1,5			
13	1,0	1,4				
14			2,0			
17			1,3		2,4	
18				2,0		
20		1,2	1,2			
21	1,1					
22			1,1			
23					1,0	
24				1,3		2,0
25			1,3			
26		1,0			0,6	
28	1,1		1,3			
30		0,99	1,2			
31	1,1				0,7	
32	1,1					
36				1,3	0,7	
38			1,3			
39		0,92	1,4			
40		0,92	1,4			2,1
42			1,5			
44		0,83	1,4			
51				1,1		2,6
61						2,6
69						1,5

TABLEAU 59 .

On peut voir que pour les faibles concentrations en colloïde la quantité relative d'acide amenant le début de la floculation varie en sens inverse de la concentration en colloïde : le rapport considéré augmente avec cette dernière. Il semble donc que le point iso-électrique soit d'autant plus facilement atteint que la concentration en colloïde est plus grande, au moins aux grandes dilutions, ce qui est conforme aux vues précédentes.

Le fait que, pour des concentrations plus fortes, le rapport baisse de nouveau pour atteindre une valeur sensiblement constante pour chacun des corps examinés — sauf pour une seule expérience sur un sérum de cheval — peut sans doute s'expliquer par la variation de d' et d'' en raison inverse de la concentration en colloïde : autrement dit, la conclusion précédente relative à la concentration des ions H au début de la floculation (voisinage du point iso-électrique), ne paraît vraie qu'en solution très diluée, ce qui est d'ailleurs *le cas de tous les électrolytes faibles* (Darmois — 32).

Il semble donc que les lois de la dissociation des électrolytes s'appliquent aux équilibres ioniques dans les solutions protéiques et analogues, dites jusqu'à présent colloïdales. Dans ce cas, la théorie des électrolytes doit permettre d'interpréter les résultats expérimentaux précédents, relatifs à l'influence des concentrations en alcool et en acide sur l'apparition du début de la floculation.

On sait que l'alcool forme avec l'eau un grand nombre d'hydrates régis par la loi dite « d'action de masse ». Au début de la floculation on a par conséquent :

$$[Al] = \frac{K. [Ale]}{[e]} \quad (10)$$

où al est la concentration d'alcool anhydre restant

Ale	—	—	hydraté à ce moment
e	—	—	d'eau

Si d_3 est le coefficient de dissociation de l'alcool hydraté, on a :

$$C. d_3 = \frac{K. [Ale]}{[e]} \quad (11)$$

où C est la concentration totale en alcool réalisée au début du phénomène.

Hypothétiquement écrivons qu'un équilibre identique existe entre l'eau et les substances étudiées. On a successivement :

$$[Col.] \times [e.] = K_1 [Col.e]$$

puis $[Cole] = [Col.] \times [e.]/K_1$, et, par le même raisonnement que précédemment :

$$C_1 = \frac{[Col.] \times [e]}{K_1 (1-d_1)} \quad (12)$$

en remarquant que $[Cole] = C_1 \times (1-d_1)$.

Dans cette expression on a :

C_1 : concentration finale en colloïde

$e.$: — — en eau

$Cole$: — — en colloïde hydraté

d_1 = le coefficient de dissociation du colloïde hydraté.

D'autre part l'expérience nous montre que l'on a :

$$C_1/C = A. C_1 \quad (13)$$

On peut donc écrire en rapprochant (13) de (12)

$$C_1/C = \frac{A. [Col.] \times [e]}{K_1 (1-d)} \quad (14)$$

De même, pour l'acide employé, nous avons au début de la floculation :

$$[Ac.] = \frac{K_2 [AcH]}{[H]} \quad (15)$$

et pour la substance étudiée :

$$[Col.] = \frac{K_3 [ColH]}{[H]} \quad (16)$$

le rapport de ces égalités donnant :

$$[Col.] / [Ac.] = \frac{K_3 [ColH]}{K_2 [AcH]} \quad (17)$$

Si nous appelons :

C_1 la concentration finale totale en colloïde

C_2 la concentration finale totale en acide

d_5 le degré de dissociation du colloïde en milieu acide

d_4 le degré de dissociation de l'acide

l'expression (17) peut être remplacée par la relation équivalente :

$$C_1/C_2 = \frac{K_3 [ColH.] d_5}{K_2 [AcH.] d_4} \quad (18)$$

En effectuant le rapport de (14) et (18) on trouve finalement :

$$C/C_2 = \frac{K_3 [ColH.] d_5 K_1 (1-d_1)}{K_2 [AcH.] d_4 A. [Col.] \cdot [e]} \quad (19)$$

Pour que la floculation se produise il faut que l'on ait de plus :

$$[ColH] = [Col.]$$

ou, en d'autres termes, il faut que la fraction du colloïde déshydratée soit la même que la fraction ayant atteint son « potentiel critique ».

Tenant compte de ce fait, l'équation (19) devient finalement :

$$C/C_2 = \frac{K_3 d_5 K_1 (1-d_1)}{K_2 A d_4 [AcH] \times [e]} \quad (20)$$

ou encore, en remarquant que $e. = C d_3$, et que $AcH = C_2 d_4$:

$$C/C_2 = \frac{K_3 \cdot d_5 \cdot K_1 \cdot (1 - d_1)}{K_2 \cdot A \cdot d_4 \cdot C_2 \cdot d_4 \cdot C d_3} \quad (21)$$

EXPRESSION DANS LAQUELLE NE FIGURE PLUS LA CONCENTRATION EN COLLOÏDE.

On voit d'après cela que le rapport des concentrations finales en alcool et en acide réalisées au début de la floculation, doit varier en sens inverse de la concentration C_2 en acide, et être indépendant de la concentration C_1 en colloïde, ce QUI EST CONFORME AUX RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX PRÉCÉDEMMENT EXPOSÉS.

L'accord entre le calcul théorique et les résultats expérimentaux semble donc confirmer la validité des hypothèses de départ, à savoir l'intervention de la loi dite « d'action de masse » dans la dissociation des complexes que les substances étudiées, habituellement dénommées colloïdes, forment avec l'eau et les ions acides ou basiques. Ces faits tiendraient à prouver que les corps examinés : glycogène, agar, ovalbumine et sérum sanguin, se comportent en solution comme des électrolytes faibles et que leur stabilité est le résultat d'un équilibre entre leur hydratation et leur charge électrique d'origine électrolytique.

A ce point de vue, il serait intéressant d'étudier les conditions de la réversibilité (si elle existe) de ces équilibres. On sait que Clausius a montré que les phénomènes qui se passent dans un système physico-chimique isolé tendent à faire croître son entropie qui devient maximum lorsque l'état stable est atteint, Boltzmann ayant par ailleurs trouvé que ceci correspondait à faire évoluer le système vers des états de plus en plus « probables ». Mais l'existence d'une probabilité entraîne celle de « fluctuations » autour de cette probabilité. Il se peut que de telles fluctuations de composition chimique existe au début de la floculation du sérum, et des études spectrales à ce moment, donneraient sans doute des renseignements utiles (consulter à ce sujet : Guye, 57).

Il serait intéressant d'étudier les sérums pathologiques en tenant compte de ces conclusions. En effet de nombreuses réactions cliniques proposées pour certains diagnostics mettent vraisemblablement en jeu des processus identiques. C'est probablement le cas des réactions de Bothello et de Wigand pour le cancer ; Nous aurons l'occasion d'y revenir (page 137).

En définitive ces phénomènes présentent les aspects de véritables réactions chimiques équilibrées, ce qui paraît conforme aux expériences de L. Ferguson et A.-W. Schluchter (44) mettant en évidence par la mesure des potentiels de diffusion l'existence dans le cas de la gélatine, d'une combinaison avec la soude, dissociée proportionnellement à la concentration et dont la mobilité (20 environ) est bien déterminée. Il est fort possible qu'il en soit de même pour le sérum et qu'on puisse le considérer comme une solution électrolytique. C'est aussi l'opinion de Mc. Lean et A.-B. Hastings (71) qui, à la suite de nombreuses expériences, ont été conduits à admettre que le sérum est une solution de protéinate de calcium dissociée proportionnellement à la concentration en protéine et en calcium total.

Avant de nous prononcer à ce sujet, nous voudrions encore apporter quelques faits expérimentaux concernant les phénomènes de peptisation.

CHAPITRE III

ÉTUDE DE LA PEPTISATION

Le raisonnement précédent suppose que l'action des ions H ou OH sur une protéine se ramène à un recul de sa dissociation jusqu'à ce que les molécules aient atteint leur « produit de solubilité » : à ce moment se produirait la floculation.

Dans ce cas il faut admettre que le flocculat lui-même possède des propriétés amphotères, puisqu'il peut se redissoudre par un excès d'électrolyte. Avant d'entreprendre toute spéculation sur ce phénomène, voyons quelles sont les conditions qui peuvent influencer la peptisation. Il serait pour cela très utile de pouvoir se placer au même point de vue que pour l'étude de la floculation et observer l'apparition du début du phénomène si toutefois le phénomène n'est pas continu et ne fait pas suite à la floculation sans l'existence d'aucun palier, ce que nous ignorons).

Malheureusement les moyens sommaires d'investigation dont nous disposons ne nous ont pas permis de suivre les modifications apportées dans la phase solide par l'adjonction des réactifs. Nous nous sommes donc contentés d'observer la fin de la dispersion.

46. *Observations préliminaires.* Notons de suite que les flocculats obtenus dans une solution protéique, et dans le sérum sanguin, peuvent subir deux évolutions distinctes. Le précipité obtenu par déshydratation seule ou par action d'un acide seul, peut par exemple être dispersé par dilution avec de l'eau distillée : dans ce cas le liquide obtenu se comportera qualitativement comme le liquide primitif, au point de vue de l'action des ions et des deshydratants, ce comportement ayant été étudié plus haut. La floculation est donc réversible dans ce cas. Mais si l'on fait agir sur ce flocculat une nouvelle quantité d'acide, le liquide obtenu après dispersion ou peptisation se comportera d'une façon différente et conforme à ce qui va être dit.

Il est par exemple possible de peptiser un flocculat obtenu par la seule action de l'acool éthylique, au moyen d'un acide, comme on le voit dans l'expérience suivante (tableau 60).

Des faits analogues se rencontrent dans l'étude du sérum. Il semble d'après cela, que l'addition d'un acide ou d'un deshydratant ne modifie pas très profondément la structure des particules protéiques, et que le flocculat obtenu dans tous les cas est toujours à peu près le même, et possède une véritable individualité analogue à la spécificité chimique : en d'autres termes ses propriétés ne semblent pas dépendre beaucoup de la façon dont il est obtenu. Nous retrouverons plus loin des faits corroborant cette observation. Disons de suite que ceci semble difficilement explicable par la théorie colloïdale habituelle, selon laquelle il n'y

a aucune raison de supposer que n'importe quel réactif aboutit à la constitution d'un flocculat construit toujours sur le même modèle pour une protéine donnée.

N/ de I/10cc. gélât. à 0,9%	N/ I/10cc. eau	vol. alcool	SO ₄ H ₂ N/50 péptisant
I9	I	Icc'	0,9
I8	2	id.	0,9
I7	3	id.	0,9
I6	4	id.	0,8
I5	5	id.	0,8
I4	6	id.	0,8
I3	7	id.	0,8
I2	8	id.	0,7
II	9	id.	0,7
IO	IO	id.	0,6
9	II	id.	0,6
8	I2	id.	0,4
7	I3	id.	0,3
6	I4	id.	0,2
5	I5	idq.	0,15

TABLEAU 60

47. *Peptisation par un acide.* — Déterminons tout d'abord comment varie la quantité d'acide produisant la peptisation complète d'un sérum, en fonction de la concentration de ce dernier. Voici une première expérience sur un sérum de cheval (tableau 61).

C° finale en sérum	C° finale en vol. SO4H2 N/50
11%	23%
17	29
21	35
25	42
29	49
30	52
34	54
36	59
37	60

TABLEAU 61

Une autre expérience a donné de même : (tableau 62),

C° finale en sérum	C° finale en vol. % SO4H2 N/50
3%	5%
5	9
8	13
11	16
15	21
17	25
19	31
22	34
23	41
26	46
30	59
35	68

TABLEAU 62 .

Des relations analogues se constatent avec une solution de gélatine. Voici par exemple les résultats d'une expérience à 19° (tableau 63) :

C° finale en gr. de gélatine	C° finale en SO ₄ H ₂ peptisant.
0,04 ⁹ / ₁₀	N/645
0,07	N/330
0,08	N/290
0,127	N/250
0,137	N/225

TABLEAU 63

Pour abrégé nous ne donnons que quelques points, mais le phénomène est continu et dans nos expériences nous avons effectué la mesure pour une vingtaine de concentrations intermédiaires comprises entre les limites indiquées dans ce tableau. Voici encore les résultats obtenus sur une solution de gélatine à 0,5% d'une autre provenance (tableau 64).

C° finale relat. en vol. de gélatine	C° finale re at. en vol. SO ₄ H ₂ N/10
21%	1
22	2
23	3
24	4
25	5
26	6
27	7
28	8
29	9
30	13

TABLEAU 64 .

On voit que dans toutes ces expériences la quantité d'acide amenant la peptisation complète varie parallèlement à la concentration en colloïde. Mais cette quantité d'acide comprend la somme : acide amenant le début de la floculation plus acide nécessaire pour peptiser. On serait tenté d'attribuer le phénomène aux variations de la première fraction. Aussi avons-nous cherché à savoir quelle était l'influence de la concentration en colloïde sur la différence entre ces deux quantités. Voici le cas d'un sérum de cheval (tableau 65) :

C° finale en vol. sérum	Différence en vol. % en % du vol. final.
11%	12%
17	12
21	13
25	15
29	15
30	21
34	21
36	24
37	24

TABLEAU 65

Sur un autre sérum nous avons obtenu les résultats du tableau 66 :

Enfin sur un sérum humain les résultats ont été les suivants (tableau 67) :

Il semble donc légitime de conclure que la concentration d'acide sulfurique nécessaire pour peptiser complètement le sérum sanguin et la gélatine, est proportionnellement à la concentration de la solution protéique en présence à la fin de la réaction.

48. *Influence de l'hydratation.* — Nous avons tenté d'employer la méthode qui nous a préalablement servi, dans le but de savoir comment variait l'hydratation des protéines après peptisation par un acide. Ici encore très probablement, la concentration en colloïde et en acide agiront simultanément, ces deux facteurs n'étant pas indépendants l'un de l'autre, comme nous venons de le voir. Cette recherche s'annonce donc difficile, car il sera toujours délicat d'affirmer que les

C° finale en vol. sérum	Différence en vol. en % du vol. final.
----------------------------	---

3%	2%
5	5
8	6
II	8
I5	I2
I7	I3
I9	I6
22	I7
23	2I
26	25
30	37
3I	4I

TABLEAU 66 .

C° finale en vol. sérum	Différence en vol. en % du vol. total.
----------------------------	---

2%	0,5
4,4	I
6	I,6
7	22
8	2,3
9	3,3
IO	4,9
I5	5,5
22	9,9
33	I3,2

TABLEAU 67 .

variations observées éventuellement dans les quantités d'alcool produisant la nouvelle floculation sont dues uniquement à l'action de l'un de ces facteurs sans aucune intervention de l'autre.

Voici par exemple sur un sérum humain comment varie cette quantité d'alcool en fonction de la concentration en sérum juste peptisé par un acide (1) (tableau 68) :

C° finale en sérum	C° relat. fin. vol. SO ₄ H ₂ N/50 peptisant	C° finale en vol. alcool
9%	6%	20%
10	10	21
13	13	29
18	13	29
20	17	30
22	19	33
28	19	35

TABLEAU 68

Il semble qu'il y ait accroissement parallèle entre ces grandeurs. Cependant ce résultat n'est pas constant et les expériences donnent des chiffres très variables, ce qui peut être dû à une certaine imprécision dans la détermination de la quantité d'acide juste peptisante.

Nous avons essayé d'opérer d'une autre façon pour éviter cette erreur. Remarquant la proportionnalité qui existe entre la concentration en sérum et cette quantité d'acide, nous avons pensé pouvoir obtenir des solutions de concentrations variées en sérum juste peptisé en diluant convenablement le mélange : sérum pur plus acide juste peptisant.

Voici quelques résultats. Dans le cas d'un sérum de cheval, la peptisation de 180 parties de sérum a été obtenue avec 95 parties de SO₄H₂ N/1. La concen-

(1) Dans cette expérience on a déterminé pour un certain nombre de C° en sérum la quantité d'acide juste peptisante, et l'on a ensuite calculé les C° finales en présence d'alcool.

tration initiale en sérum est donc de 75% et l'acidité N /3. La variation de la quantité d'alcool cherchée est donnée dans le tableau 69 :

C° finale sérum	C° finale alcool
73%	10%
60	12
50	15
43	16
30	19
17	20
11	21
6	24
1	29

TABLEAU 69

Les expériences conduites de cette façon aboutissent donc à des résultats diamétralement opposés aux précédents, ce qui tient vraisemblablement à ce que la concentration de l'acide juste peptisante ne croit pas aussi vite que la concentration en sérum, comme d'ailleurs cela ressort des expériences rapportées dans les tableaux 61 et 62. Par conséquent dans le cas actuel, la quantité d'acide présente est manifestement trop forte pour les faibles concentrations en sérum dont la fin de la peptisation est largement dépassée. Le fait que pour cette cause, la concentration finale en alcool nécessaire est considérablement augmentée au point d'être plus forte pour les faibles C° que pour de grandes quantités de protéines, nous fait déjà pressentir que l'acidité doit avoir pour effet d'augmenter l'hydratation telle que nous l'avons définie dans le sérum peptisé.

Voyons comment varie la quantité d'alcool cherchée quand, à concentration constante en sérum on fait varier la proportion d'acide à partir de la quantité juste peptisante. Voici tout d'abord une expérience sur un sérum de cheval à une concentration voisine de 35% (tableau 70) :

C° finale sérum	C° relat. fin. SO ₄ H ₂ N/I	C° finale alcool.
0,43	0,04	0,13
0,38	0,08	0,23
0,39	0,11	0,25
0,35	0,13	0,29
0,36	0,19	0,23
0,39	0,22	0,25
0,35	0,25	0,29
0,35	0,29	0,29
0,36	0,32	0,29
0,39	0,37	0,25

TABLEAU 70 .

C° fin. vol. sérum	C° relat. fin. vol. SO ₄ H ₂ N/50	C° fin. vol. alcool
12%	16%	24%
II	17	30
10	20	30
10	22	37
10	27	32
10	30	32
10	31	35

TABLEAU 71

D'autres expériences sur du sérum humain nous ont donné, pour des concentrations voisines, des résultats analogues. Il est difficile d'après cela de se faire une idée sur la façon dont varie l'hydratation en fonction de l'acidité : il semble cependant que le phénomène ne soit pas continu. Ce dernier point apparaît plus nettement, et la variation est plus systématique, quand on opère avec de faibles concentrations en sérum.

Voici par exemple le cas d'un sérum humain examiné dans les mêmes conditions, à une concentration voisine de 10% (tableau 71) :

Il semble que la quantité d'alcool cherchée présente un minimum peu accusé pour une certaine concentration en acide. Nous avons pu faire la même constatation au cours d'une dizaine d'expériences sur le même sujet.

Un minimum se manifeste également lorsque l'on cherche la variation de la quantité d'alcool flocculante en fonction de la concentration en sérum, en présence de l'acidité juste nécessaire pour amener la peptisation. Voici une expérience sur un sérum de cheval (tableau 72) :

C° fin. vol. sérum	C° relat. fin. vol. SO ₄ H ₂ N/50	C° finale vol. alcool
3%	5%	13%
4	9	15
7	11	19
10	13	20
12	17	19
13	18	20
14	20	17
16	22	13
19	26	9
20	31	8
23	40	12
29	62	13
25	73	19

TABLEAU 72 .

Six autres expériences nous ont donné des résultats analogues. Cette expérience a été conduite de la même façon que celle rapportée dans le tableau 69. On voit que le minimum est très net pour le sérum de cheval, tandis que dans le sérum humain envisagé en premier lieu le phénomène se manifeste simplement par un palier correspondant à peu près à la même concentration de 20% environ en sérum.

Rappelons que c'est également au voisinage de cette concentration que l'indice de réfraction subit un changement intéressant au cours de la dilution avec de l'eau.

En ce qui concerne l'allure de la variation de la quantité d'alcool flocculant en fonction de la concentration en sérum peptisé, on peut encore s'en faire une idée en opérant de la façon suivante. On dilue préalablement le sérum avec de l'eau distillée, et pour chaque dilution, on fait varier la concentration en acide à partir du minimum amenant la peptisation, et l'on détermine pour chaque cas la quantité d'alcool juste flocculante. On choisit ensuite parmi les chiffres obtenus ceux qui correspondent à des concentrations finales en acide aussi voisines que possible.

Voici les résultats d'une série de mesures conduites de cette façon sur un sérum de cheval (tableau 73) :

C° finale sérum	C° relat. fin. vol. SO ₄ H ₂ N/50	C° finale alcool
50%	23	30
51	18	22
55	11	17
20,8	26	21
20,9	24	19
22	22	17
23,2	20	11
23,2	19	11
12,4	31	6
10,2	30	15
10,4	29	12

TABLEAU 73 .

Cette façon de procéder à l'avantage de montrer simultanément l'influence de la concentration en colloïde et de celle de l'acide sur l'hydratation du sérum peptisé.

En résumé, de cette série de mesures, il se dégage les points suivants :

1. L'hydratation définie par le rapport des concentrations finales réalisées au début de la floculation : C° colloïde / C° alcool, varie en raison inverse de la concentration en colloïde, pour le sérum sanguin, la gélatine, l'ovalbumine, la gélose et le glycogène.

2. La quantité d'acide amenant à elle seule le début de la floculation, pour ceux de ces corps précipitables dans ces conditions, augmente parallèlement à la concentration en colloïde.

3. Le rapport : C° colloïde / C° acide, présente dans le cas du sérum un maximum qui semble assez bien défini pour une concentration en sérum de 20% environ.

4. L'étude du rapport des concentrations finales réalisées au début de la floculation : C° alcool / C° acide, montre que, pour tous ces corps l'acidité fait baisser l'hydratation, toutes choses égales d'ailleurs. De plus, ce rapport est indépendant de la concentration en colloïde.

5. Tous ces faits peuvent être interprétés en appliquant la loi de dilution dans des conditions qui ont été indiquées, ce qui paraît justifier les hypothèse de départ, à savoir :

ces corps, et surtout le sérum sanguin, semblent se comporter comme des électrolytes faibles dont les constantes de dissociation ne varieraient en raison inverse de leur concentration que pour de grandes dilution. L'action des acides et des deshydratants est régie, d'après cela, par un double équilibre soumis à la loi d'action de masse.

6. Les faits recueillis au cours de recherches sur la peptisation du sérum et de quelques protéines, floculées dans des conditions diverses montrent que ce phénomène fait intervenir des actions exactement inverses de ce qui a lieu pour la floculation :

a) augmentation parallèle de la quantité d'acide peptisant et de la concentration en colloïde ;

b) augmentation parallèle de la concentration en colloïde et de la différence entre acide peptisant et acide floculant ;

c) variation de l'hydratation toujours en sens inverse de la concentration en colloïde ;

d) augmentation de l'hydratation sous l'influence de l'acidité, toutes choses égales d'ailleurs.

7. Si l'on ajoute à ceci le fait que les floculats protéiques obtenus dans les conditions les plus variées possèdent toujours, pour un corps donné, à peu près les mêmes propriétés non influencées par les conditions dans lesquelles ils prennent naissance, et que leur peptisation se produit toujours selon le même processus, on est amené à conclure que la peptisation et la floculation sont des réactions qui se passent entre des électrolytes faibles susceptibles de voir leur comportement modifié par les variations de leur hydratation.

QUATRIÈME PARTIE

ÉTUDE REFRACTOMÉTRIQUE DE LA FLOCCULATION

D'après la théorie de la structure colloïde du sérum sanguin, l'adjonction d'un acide provoque essentiellement une modification de la charge électrique des couches entourant les micelles, modification proportionnelle à la concentration en acide ajouté. S'il en est bien ainsi, à mesure que la concentration en acide décroît, on doit observer une variation systématique de l'indice de réfraction du liquide, la perturbation atteignant son maximum au moment de la floculation. Lorsque la floculation se produit, l'indice doit subir une chute importante, correspondant à l'élimination de matériaux solides quittant la phase liquide ou le sol.

Mesurons les variations de l'indice de réfraction du sérum en fonction de quantités croissantes d'acide. Il est intéressant d'ailleurs de poursuivre les mesures au delà de la floculation, pour observer ce qui peut se passer après peptisation du flocculat, par des quantités d'acide plus fortes.

Une première série de mesures sur le sérum de cheval nous a montré que cette étude était malaisée à conduire. Pour des concentrations en acide voisines de celles amenant la floculation, le liquide présente un louche diminuant beaucoup la précision des observations concernant la position des franges d'interférence. Pour éviter cet inconvénient, nous avons essayé d'opérer sur des quantités assez importantes de sérum et de filtrer le liquide au moment de la mesure. Cette façon de procéder ne nous a pas donné les résultats que nous en attendions, mais par contre nous a permis de faire des constatations intéressantes qui mériteront une étude détaillée ultérieure. Nous avons, en effet, constaté que, même en employant un très petit filtre, la filtration modifiait toujours l'indice de réfraction du liquide étudié; de plus, les liquides qui passent au début et à la fin de la filtration n'ont pas la même composition ni le même indice de réfraction. L'ordre dans lequel les liquides : sérum, eau, acide sont mélangés, a également son importance, les résultats diffèrent selon les cas, sur un même échantillon de sérum. Enfin, au point de vue théorique, l'élimination de la phase solide doit compliquer considérablement le problème en déplaçant l'équilibre qui paraît exister entre les colloïdes et l'acide, comme nous l'avons vu. Enfin, une petite quantité d'électrolyte doit se trouver éliminée du liquide par adsorption sur le flocculat. Ces observations sont analogues à celles faites par E. Kylin au cours de la formation du sérum.

Tous ces phénomènes, qui mériteront une étude détaillée que nous avons l'intention d'entreprendre ultérieurement, ont motivé dans nos recherches l'abandon de la filtration préliminaire. Dans les expériences rapportées ci-dessous, nous avons effectué les mesures directement sur le liquide opalescent; la précision des mesures est donc seulement de 1/10 de frange, les examens étant faits

sous une épaisseur de 1,64 mm. Pour simplifier, nous indiquons seulement les déviations observées en nombre de divisions du tambour du compensateur, l'une des cuves étant remplie d'eau distillée, car, seule importe l'allure de la variation éventuelle d'indice.

Sur deux échantillons de sérum de cheval conservés depuis deux ans en ampoules scellées, nous avons obtenu les résultats consignés dans le tableau 74 :

C° sérum	C° SO4H2	Sérum I	Sérum II
II,3%	N/3750	54	33
II,3	- 2860	51	36
II,2	- 1915	52	40
II,1	- 870	51	40
II,0	- 475	53	37
IO,9	- 325	45	38
IO,9	- 245		36
IO,8	- 195	51	
IO,6	- 165	51	
IO,6	- 145	55	30
IO,5	- 125	51	30
IO,5	- 115	60	32
IO,5	- 100	30	36
IO,5	- 95	40	36
IO,4	- 85	48	36
IO,4	- 80	53	27
IO,4	- 75	52	37
IO,4	- 70	57	40
IO,4	- 67	55	42
IO,3	- 65	56	
IO,3	- 61	57	
IO,2	- 59	57	
IO,2	- 57	63	
IO,0	- 55	58	
9,9	- 50,4	58	

TABLEAU 74 .

Ces résultats sont exprimés sur le graphique 25. Deux sérums de cheval examinés à l'état frais nous ont donné les résultats contenus dans le tableau 75.

C° sérum	C° SO4H2	Sérum I	Sérum II
II,1%	N/935	38	50
II,0	- 475	44	51
II,1	- 325	40	53
II,0	- 245		50
II,0	- 185	44	54
II,0	- 165	45	35
IO,9	- 145	44	
IO,8	- 125	35	
IO,7	- 115	40	
IO,7	- 100	45	45
IO,7	- 95	45	50
IO,6	- 85	47	36
IO,5	- 80	44	43
IO,5	- 75		52
IO,4	- 70		52
IO,4	- 67		52

TABLEAU 75 .

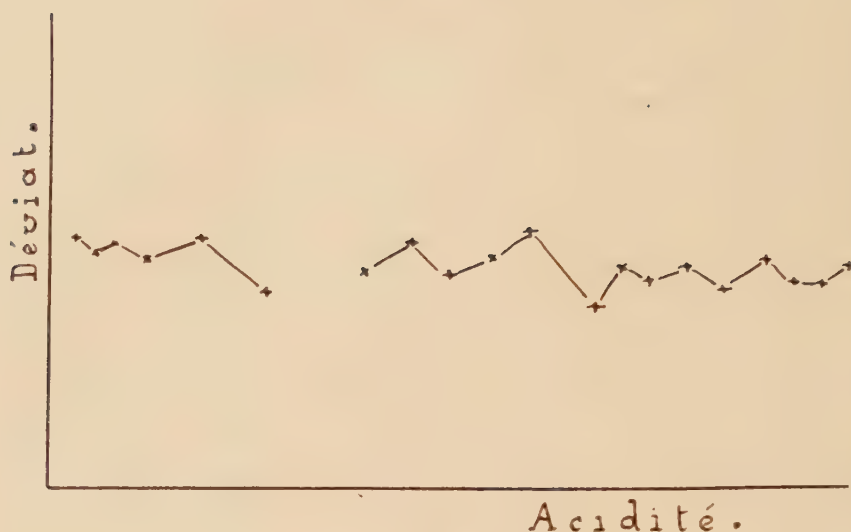


FIGURE 25

Nous avons également effectué quelques mesures sur du sérum de lapin exam-
men 24 heures après le prélèvement. Les résultats sont exposés dans le tableau
76.

0° en sérum	G° SO ₄ H ₂	Sérum I	Sérum II
7,7%	N/935	82	88
	- 475	87	88
	- 325	82	80
	- 245	84	80
	- 185	87	72
	+ 165	88	50
	- 145	95	
	- 125	72	92
	- 115		92
	- 100		92
	- 95	92	100
	- 85	106	64
	- 80	103	104
	- 76	105	108
7,1%	- 73	112	
	- 69	100	
	- 67	104	
	- 65	115	

TABLÉAU 76 .

On voit, dans tous les cas, que l'addition progressive de SO₄H₂ provoque un minimum très accusé de l'indice de réfraction, au moment où se produit la première floculation réversible; de plus, ce premier minimum est constamment suivi d'un second, plus ou moins accusé mais toujours très net, alors que le liquide reste à ce moment parfaitement limpide.

Cette variation est considérable, étant donné la sensibilité de l'appareil. En

valeur absolue, la chute d'indice correspondant à ce dernier minimum a été comprise dans nos expériences, entre 0,00054 et 0,00099. On conçoit cependant qu'une telle chute ait échappé aux chercheurs ayant opéré avec des réfractomètres ordinaires.

Il sera intéressant d'étudier les propriétés physiques du sérum au voisinage de ce point particulier, et de comparer le comportement des sérums normaux et pathologiques au même point. Une fois de plus, nous voyons que la mesure précise des indices de réfraction, tout en nous fournissant des éléments pour la solution de problèmes posés, soulève de nouvelles questions nécessitant des études particulières.

De cette série de mesures (1) il se dégage les conclusions suivantes :

I. L'addition d'un acide tel que $\text{SO}''\text{H}_2$ à un sérum animal dilué au voisinage de 10 [ne modifie pas sensiblement son indice de réfraction jusqu'au début de la floculation : à ce moment se produit une chute importante de l'indice.

II. Après peptisation, il se produit, pour une certaine concentration en acide bien définie une nouvelle chute de l'indice, bien que le liquide reste à ce moment parfaitement limpide. Cette seconde chute est probablement le signe d'une discontinuité dans la marche des modifications physico-chimiques produites dans le sérum par la présence des ions H, ce que des études ultérieures préciseront.

Le sérum peptisé possède à peu près le même indice de réfraction qu'avant la floculation : la précipitation ne semble donc pas modifier la structure des corps qui constituent le floculat, ce que des expériences précédentes nous avaient déjà permis de supposer.

Il est possible de se rendre compte de la façon dont l'acidité intervient pour modifier les propriétés optiques du sérum sanguin. Pour cela déterminons sur un même échantillon, les variations de son indice de réfraction en fonction de sa concentration après dilution avec de l'eau distillée, dans les trois conditions suivantes :

- a) en présence d'une quantité constante d'acide ;
- b) en présence d'une quantité constante de base (soude) ;
- c) en présence d'eau distillée seule.

Le graphique 26 montre le résultat obtenu à 17° sur un sérum de lapin.

On retrouve, en présence d'eau pure, l'accident déjà signalé au voisinage de la concentration 20% en sérum. Il est donc probable que l'interprétation proposée précédemment (page 45) pour l'inflexion de ce graphique est exacte. L'addition de soude à la concentration finale de N /100 conserve au graphique une allure identique, mais l'accident en question se déplace vers les faibles concentrations en sérum, tandis que l'addition de $\text{SO}''\text{H}_2$ à la concentration finale de N /500, le ramène vers les fortes concentrations.

(1) Il n'a pas été possible d'examiner un plus grand nombre de sérums : les mesures devant être très nombreuses sur un même échantillon, et le travail ne pouvant être interrompu dans la crainte de modifications du sérum avec le temps ; certaines de ces expériences ont duré jusqu'à 19 heures consécutives, ce qu'il est difficile de renouveler souvent.



FIGURE 26

L'étude précise de ce phénomène ne fait pas partie du programme que nous nous sommes fixé, mais nous avons l'intention de lui consacrer ultérieurement une étude détaillée, car il semble bien que cette méthode puisse fournir des indications utiles sur les conditions de stabilité des corps qui flocculent par addition d'eau distillée au voisinage de cette concentration en sérum de 20%.

Maintenant examinons comment l'hydratation du sérum peut modifier son comportement en présence d'une substance additionnelle telle que le glucose, dont nous avons étudié l'action sur l'indice de réfraction. Pour la question qui nous occupe, il est particulièrement intéressant de voir ce qui se passe au voisinage de la flocculation, et surtout de comparer les résultats obtenus avant précipitation et après peptisation. Mais, à concentration constante en déshydratant, la peptisation ne peut être obtenue que par excès d'acide. Ce fait nous oblige à effectuer les mesures en milieu acide.

Après quelques tâtonnements, nous avons effectué une série de mesures selon le processus suivant (1). Sur chaque échantillon de sérum nous avons, pour une concentration déterminée en sérum, mesuré en fonction de doses croissantes de SO_4H_2 la quantité d'alcool juste nécessaire pour provoquer le début de la flocculation, avant précipitation par l'acide seul, et après peptisation complète par celui-ci. Une fois en possession de ces indications, nous réalisons un mélange de sérum, d'acide et d'alcool correspondant à la composition ou mélange dans lequel la flocculation et la peptisation étaient juste débutantes, ou finissantes, et

(1) Voir page 85 les détails techniques concernant ces mesures.

sur ce liquide, nous déterminions les variations de l'indice de réfraction, soit après adjonction d'une faible quantité d'eau, soit après addition de la même quantité de la solution glucosée à 1/1000. Enfin, nous déterminions, sur les mêmes échantillons, à la même concentration en sérum et en acide, l'action du glucose seul, en l'absence d'alcool.

Dans les tableaux suivants, nous indiquons pour chaque échantillon la concentration finale x en sérum ; la grandeur $(n_3 - n')$ -A précédemment défini (page 55) ; qui prend ici les valeurs : A en absence d'alcool et B en présence d'alcool.

Comme l'allure seule du phénomène importe, nous indiquons les résultats en nombre de divisions du tambour du compensateur, pour $y = 5825 \mu\lambda$, et une épaisseur de liquide de 2,30 mm.

Sérum	Avant floculation :			Après peptisation		
	X	A	B	X	A	B
Cheval	77,3%	66	6	77,3	67	30
Cheval	77,3	51	26	77,3	49	18
Cheval	77,3	46	16	77,3	51	11
Humain	77,3	51	13	77,3	34	11
Humain	77,3	36	1	77,3	36	11
Humain	77,3	40	10	77,3	32	8
Humain path.	77,3	50	30	77,3	70	20

TABLEAU 77

Si nous rapprochons ces résultats de ceux de la page 57, nous voyons que, l'indice de réfraction du sérum acidifié étant sensiblement le même avant floculation et après peptisation, le comportement du glucose se trouve au contraire modifié : l'augmentation d'indice qu'il produit dans le sérum est moins accusée dans le liquide résultant de la peptisation du flocculat par l'acide.

Au point de vue de l'action de l'alcool agissant comme deshydratant, on voit qu'en sa présence, l'action du glucose sur l'indice est beaucoup moins accusée que dans le sérum pur, aussi bien avant floculation qu'après peptisation, et, à ce point de vue également, les liquides correspondant à ces deux cas se comportant d'une façon à peu près identique.

Cette série de mesures permet donc de faire les constatations suivantes :

1) La variation de l'indice de réfraction du sérum sous l'influence de doses croissantes d'un acide n'est pas continue :

- au moment de la floculation se produit une chute brusque et importante correspondant à l'élimination de la phase solide.
- après peptisation, le liquide possède à peu près le même indice qu'au début de la floculation, à la très petite différence près due à la nouvelle adjonction d'acide nécessaire pour produire le phénomène.

Ce fait paraît traduire une constance remarquable, déjà rencontrée précédemment dans la structure et les propriétés des substances précipitables, qui semblent ainsi présenter une véritable individualité physico-chimique.

c) De plus, pour de faibles concentrations en sérum, il se produit, dans le liquide peptisé par un acide, une autre chute de l'indice bien que le liquide reste à ce moment parfaitement limpide. Cet accident se produit pour une concentration en acide pour laquelle quelque chose d'analogue a été observé dans les variations de l'hydratation du sérum peptisé sous la même influence. Il doit donc se produire à ce point une modification structurale de l'un des constituants du sérum, mise en évidence par les mesures interférentielles, et qui avait échappé avec les autres procédés d'investigation.

II. La dilution avec de l'eau distillée d'un sérum préalablement acidifié, ou auquel on a ajouté une base, permet de constater que l'accident survenant au voisinage de la concentration de 20% dans la variation de l'indice, se déplace vers les fortes concentrations en sérum sous l'influence d'un acide, et inversement sous l'influence d'une base.

III. La variation de l'indice du sérum en présence d'une substance étrangère telle que le glucose est, pour une même dose de ce corps, à peu près identique avant floculation et après peptisation, quoique généralement un peu inférieure dans ce dernier cas.

IV. L'addition d'un déshydratant au sérum, avant floculation ou après peptisation, diminue beaucoup l'effet d'une adjonction ultérieure de glucose et, ici encore, le résultat est sensiblement analogue avant floculation et après peptisation.

Ces faits semblent confirmer l'existence de propriétés physico-chimique du flocculat qui rendent sa nature à peu près indépendante des conditions dans lesquelles il prend naissance, ce qui est actuellement difficilement explicable par la théorie de la structure colloïdale du sérum sanguin.

CINQUIÈME PARTIE

LA STRUCTURE DU SÉRUM SANGUIN

CHAPITRE PREMIER

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

49. Arrivés au terme de cette étude, il faut se demander s'il est possible de rattacher entre eux les faits apparemment disparates qui ont été mis en évidence.

L'étude des conditions amenant le début de la floculation du sérum a montré qu'il était nécessaire de réformer nos conceptions à ce sujet. On a vu que l'hydratation telle qu'elle a été définie varie en sens inverse de la concentration en protéine, avant floculation comme après peptisation. Il faut ajouter à l'appui de ces résultats, les travaux de N. Marinesco (105) qui, par mesure de la constante diélectrique des solutions est arrivé à la conclusion que l'eau fixée par gr. de substance dans le cas de l'amidon, la gomme arabique et l'hémoglobine, varie en sens inverse de leur concentration.

Nous avons constaté de plus, que l'acidité diminuait l'hydratation du sérum. Il est possible de concevoir l'existence d'un double équilibre entre les constituants du sérum d'une part, et l'eau et les ions H d'autre part. Le calcul permet alors, par application de la loi de dilution, de trouver entre ces grandeurs des relations qui satisfont exactement aux résultats expérimentaux (formule de la page 112).

L'indication d'un certain état d'équilibre hydrique semble également se manifester dans les expériences de W. Ludlum et L. Nugent (99) constatant que, en présence de sérum humain, le taux de gonflement de la gélatine baisse quand augmente le taux des protéines de 2 à 10%, l'ionisation, la présence du glucose et le pH ayant une influence très faible sur le phénomène.

Quant à l'équilibre entre protéines et ions H, il a été soupçonné par quelques auteurs, et peut se déduire de beaucoup de travaux. Nous avons donc surtout précisé son existence. Il semble donc bien que la loi d'action de masse intervient au début de la floculation du sérum sanguin. A ce moment on peut concevoir, pour raisonner toujours chimiquement, que la tension de dissolution des protéines est égale à leur pression osmotique, puisque le liquide est alors saturé. Si, pour une raison quelconque, adjonction d'acide ou d'alcool, par exemple, on fait diminuer la stabilité du sérum, sa tension de dissolution doit diminuer, et inversement dans le cas contraire. C'est ainsi que la dilution du sérum, provoquant comme nous l'avons vu, une augmentation de son hydratation, doit avoir

pour effet de faire croître sa stabilité (la tension de dissolution devient plus élevée). De fait, l'expérience montre qu'il en est bien ainsi, au moins aux faibles concentrations en sérum : la stabilité étant conditionnée simultanément par l'hydratation et les ions H dans les conditions de nos expériences, on a vu que ces deux paramètres varient parallèlement au cours de la dilution, et que le rapport des quantités présentes au moment de l'équilibre : $C^{\circ} \text{ alcool} / C^{\circ} \text{ acide}$ est indépendant de la concentration en sérum, ce qui signifie que, si l'hydratation augmente, le sérum devenant plus stable, exige une augmentation de la quantité d'alcool flocculante, et une augmentation corrélative de la quantité d'acide présente.

Peut-on concevoir que l'action de l'alcool se ramène à une augmentation de la concentration ionique dans le milieu intermicellaire s'il existe, une partie de l'eau se trouvant fixée sur les molécules éthyliques ? Dans ce cas on comprendrait que le « potentiel critique » défini par Kruyt **82** soit plus vite atteint si l'on augmente cette concentration en déshydratant. Mais il ne semble pas que l'action de l'alcool puisse se réduire simplement à cela. En réalité, ce réactif modifie les protéines elles-mêmes. En effet, son adjonction provoque toujours une forte diminution de la viscosité du liquide, tandis que J. Loughlin **97** a montré au contraire, que dans le cas de l'ovalbumine, la viscosité était presque indépendante du pH, même en présence d'autres électrolytes. Les résultats de cet auteur sont d'ailleurs fortement sujets à caution, car s'il en était ainsi l'hydratation ne devrait pas varier en fonction de l'acidité. Or, nous avons vu qu'il n'en était rien, et que l'acidité avait une influence très nette, diminuant l'hydratation.

Les mesures d'indice de réfraction viennent ajouter un certain nombre de faits qui semblent confirmer ces assertions. On a observé page 39 que la variation de l'indice de réfraction en fonction de la concentration en sérum présente un accident au voisinage de la concentration de 20% : et que le graphique représentatif ne satisfait pas à l'équation habituelle de dilution des indices. Or, les travaux de Boutaris et Doladible (**33-34**) ont montré que pour cette concentration, le sérum présente une zone d'instabilité qui peut correspondre à la flocculation de certaines fractions albuminoïdes suivie de leur redispersion pour des dilutions plus grandes ou plus faibles. Ces flocculations se produisent irrégulièrement, le liquide pouvant rester transparent ou presque, surtout dans le cas du sérum humain, mais l'accident relatif à l'indice de réfraction est remarquablement constant. Il semble bien être en relation avec la stabilité des corps qui flocculent à ce point par dilution. En effet, si on ajoute un acide au sérum, ce point se déplace vers les fortes concentrations en sérum, le contraire étant obtenu par addition d'une base : l'acide diminuant l'hydratation comme on l'a vu, diminue la stabilité de ces corps qui flocculent plus tôt, c'est-à-dire pour une plus faible dilution. La précipitation est parfois empêchée, sans doute à cause de la composition minérale du sérum, mais le phénomène paraît constant. Dans ce cas seul la mesure de l'indice de réfraction permet de le mettre en évidence.

Cependant, parfois les mesures de l'hydratation permettent aussi de retrouver ce phénomène : la variation de la quantité d'alcool amenant la flocculation en

milieu acide, en fonction de la concentration en sérum peptisé montre souvent un accident (minimum) au voisinage de cette concentration de 20%, mais des mesures sont peu précises et le résultat est inconstant.

Une explication identique doit pouvoir intervenir à propos du deuxième minimum que présente l'indice de réfraction du sérum en fonction de l'acidité : cet accident se produit dans le sérum peptisé par un acide, et la quantité d'alcool flocculant le liquide dont la composition correspond à ce point présente également un minimum. Il est très vraisemblable, d'après ce que l'on vient de voir, que ce nouvel accident corresponde à une variation nettement définie des propriétés de certains constituants du sérum, dont il devient ainsi possible de dissocier les actions respectives.

Ce premier groupe de faits va permettre d'expliquer le comportement de l'indice de réfraction du sérum en présence des sucres et notamment du glucose.

Kopaczewski a montré que le glucose augmentait la viscosité et diminuait la tension superficielle du sérum (81), deux conditions qui, d'après le même auteur, empêchent sa gélification (77). Conformément à ce qui a été dit, l'addition de glucose doit augmenter la stabilité du sérum. Le fait que ce corps agit sur la viscosité montre que, conformément aux travaux de Lecomte du Noüy (90), son action se porte sur la molécule protéique elle-même dont il remanie la disposition intérieure. De fait, nous avons vu que l'augmentation d'indice du sérum en présence de ce sucre ne pouvait s'expliquer au moyen de l'hypothèse d'une « espace non solvant » renfermant une partie de l'eau contenue dans le sérum, cette hypothèse étant d'ailleurs démentie par les travaux de Hill sur les tension de vapeur (62-63). Le comportement du glucose quand varie la concentration en sérum, incite plutôt à penser qu'il s'agit d'une réaction chimique nettement définie : l'augmentation d'indice n'est pratiquement pas influencée par la variation de concentration en protéines, la réaction semblant complète à toutes les dilutions envisagées, ce qui est naturel, étant donné la très faible importance relative du glucose ajouté en regard de la concentration des protéines.

Dans ces expériences l'augmentation de la stabilité du sérum est parallèle à l'augmentation de son indice de réfraction en présence du glucose (1). Cette assertion est prouvée par d'autres faits. On a vu que l'addition de KCl diminue l'action du glucose ; or, d'après Antonetti (5), ce sel diminue l'hydratation des protéines, donc leur stabilité. Le résultat obtenu en ajoutant glucose et KCl au sérum est donc probablement le compromis résultant de leur action respective sur l'hydratation et la stabilité des protéines.

Dans cette hypothèse, KCl agit comme déshydratant, et doit avoir à peu près la même action que n'importe quel déshydratant. De fait, il a été possible de montrer que l'addition d'alcool diminue l'action du glucose de la même façon que le KCl.

Enfin les mesures de l'action du glucose sur les sérums chauffés viennent encore à l'appui de cette conception. LL. Anson et Mirsky ont montré que sous

(1) Ce parallélisme n'est pas toujours constant car Czubalski a vu (30) par l'excitation du vague, augmenter la stabilité du sérum tandis que la réfraction baissait.

l'influence de la chaleur sur la viscosité des systèmes protéiques, donc leur hydratation, augmentait jusqu'à la coagulation (3). Antérieurement dans le cas du sérum, Lecomte du Noüy a donné des précisions sur ce phénomène (90-91). Or, nous avons constaté que l'action du glucose sur l'indice de réfraction est plus prononcée dans le sérum chauffé que dans le sérum normal : le chauffage agit donc en sens inverse de l'alcool qui diminue l'hydratation.

Tous ces faits semblent bien confirmer les vues énoncées par Lecomte du Noüy dans une communication à la Société française de Sérologie (91), selon lesquelles les modifications moléculaires mises en évidence par les mesures physiques ne sont que l'expression d'altération chimiques sous-jacentes. Ici, nous constatons que les modifications physiques de l'indice de réfraction du sérum sont intimement liée à des réactions chimiques déclenchées par les réactifs à l'état de traces (glucose ou acide), et très étroitement liées à la stabilité de l'équilibre des protéines sériques.

En définitive, le sérum se comporte comme un mélange d'ampholytes faiblement dissociés, dont la stabilité, placée sous la dépendance de son ionisation et de son hydratation, est entièrement régie par la loi d'action de masse. Cette conception permet d'expliquer d'une façon très cohérente et complète, les particularités de la variation de son indice de réfraction dans des conditions variées (sérum chauffé, présence de glucose et de sels, dilution par l'eau avec ou sans présence de bases ou d'acide). Les accidents présentés alors par l'indice du sérum s'expliquent par des variations correspondantes de la structure et de la stabilité de ses différents constituants. Il ressort de plus que les flocculats visibles obtenu dans le sérum possèdent des propriétés à peu près indépendante des conditions dans lesquelles ils prennent naissance, ce qui leur confère une véritable individualité chimique et des propriétés physiques qui les caractérisent nettement.

CHAPITRE II

INTERPRÉTATION DE QUELQUES RÉACTIONS BIOLOGIQUES

Les recherches qui viennent d'être exposées apportent quelques éclaircissements sur le mécanisme de certaines réactions employées en biologie, ou cliniquement, pour le dépistage des maladies.

Nous allons en examiner un certain nombre et tenter un début d'explication des processus qu'elles mettent en œuvre.

50. *Réaction de gélification de Kopaczewski.* — Nous avons déjà dit (page 85), à quel phénomène elle correspondait. La réaction qui, d'après son auteur, permettrait de déceler certains troubles organiques et notamment le cancer, consiste à ajouter 0,1 cc. d'acide lactique à 1 cc. de sérum, et de noter le temps au bout duquel il est possible de retourner le tube sans renverser son contenu. Dans une série de mémoires (75-76-77-78) Kopaczewski étudie le mécanisme de ce phénomène, signale une action identique de la part de nombreuses bases minérales et organiques et montre que, dans 90% des cas de néo-formation la vitesse de gélification est considérablement accélérée.

D'après ce que nous savons maintenant (voir page 112), il semble que l'apparition d'un gel soit favorisée par un état de déshydratation assez avancé du sérum qui peut être produit par le réactif ajouté lui-même, indépendamment de son action ionique : il est sans doute possible d'expliquer de cette façon les faits signalés par S. T. Marczewsky (103), montrant que certaines bases renforcent ou inhibent l'action des autres dans ce phénomène. Il serait donc très intéressant d'examiner au même point de vue les sérums de cancéreux, en utilisant la méthode d'investigation qui nous ont servi et qui fournit des renseignements plus détaillés.

51. *Réaction de Gori.* — On peut vraisemblablement envisager sous le même angle la plupart des phénomènes de floculation du sérum en milieu acide ou basique, telle l'addition à un sérum dilué et maintenu à 80%, d'acide orthophosphorique qui, selon P. Gori (49), provoque une floculation dont la limite et l'intensité ont également mis en évidence des différences dans le comportement des sérums humains et ceux de cheval, au point de vue de l'action des acides et de l'alcool.

52. *Réaction de Botelho.* — La réaction de Botelho pour le cancer est basé sur le fait que l'iode en milieu acide, possède une propension plus ou moins grande à produire un précipité dans le sérum. Pratiquement 0,5 cc. de sérum sont acidifiés par 3 cc. d'un mélange renfermant 1 cc. de NO_3H à 36° B, dans 100 cc. de NaCl à 7 p. 1000 ; puis on ajoute une première fois 0,3 cc. d'un mélange renfermant 1 gr. d'iode et 2 gr. de IK dans 210 gr. d'eau, puis une deuxième fois 0,5 cc.

du même réactif et une troisième fois 0,3 cc. : si la réaction est négative il ne se produit pas de précipité persistant.

Cette réaction dépend de la concentration globale en protéine, aussi a-t-elle été modifiée de différentes façons bien analysées par J. Bigwood (9). Les études les plus importantes se rapportant à cette réaction sont celles de Itchikawa (65), montrant en 1920, que le résultat est influencé par le rapport albumine globuline, susceptible de varier dans le cancer. La réaction peut être négativée par un rapport trop grand : les albumines paraissent donc stabiliser le sérum, les globulines agissant en sens inverse. On sait d'ailleurs que les globulines exigent la présence de sels pour se disperser, tandis que les albumines sériques sont très solubles dans l'eau (Vittorio Scaffidi 129). L'auteur japonais propose donc d'ajuster la réaction de Botelho au moyen du dosage des albumines et globulines.

Mais les études de Loiseleur et Morel ont conduit à des considérations plus importantes au point de vue qui nous occupe. Après avoir vu que le cholestérol ne joue ici aucun rôle (95) ils constatèrent (96), après avoir isolé par dialyse les euglobulines sériques, que ces corps en solution dans l'eau salée à 7 p. 1000 présentent toujours une réaction positive, tandis que le reste du sérum présente toujours une réaction négative. D'après cela il semble que les degrés de la réaction de Botelho traduisent les variations de la stabilité des euglobulines en présence des autres constituants du sérum. Il serait intéressant de vérifier cette conception par d'autres recherches. Si elle se trouvait confirmée, nous aurions un nouvel exemple d'une protéine dont la stabilité en présence d'acide ou de corps précipitants, ne pourrait être considérée comme une simple propriété colloïdale dépendant de son état physique et indépendant des autres substances présentes.

53. *Réaction de Wigand.* Une autre réaction a été proposée pour le diagnostic du cancer. Elle consiste à flocculer le sérum au moyen du tannin : on constate que le sérum de cancéreux floccule pour des doses infimes de réactif. L'emploi de ce corps est très intéressant pour notre thèse, car, outre des propriétés qui lui sont propres, le tannin agit comme déshydratant, par un mécanisme compliqué qui a été étudié par Kruyt (82).

Le fait que le tannin produise dans le sérum de cancéreux une flocculation précoce qui conduit aux mêmes conclusions que les réactions de Botelho et de Kopaczewski, incline en faveur de la conception faisant intervenir à la fois une action ionique et une action déshydratante sur les constituants du sérum sanguin. Le sérum de cancéreux se caractérise d'après cela par une stabilité diminuée par rapport au sérum normal. Il serait donc probablement très intéressant de soumettre ce sérum à des expériences du genre de celles que nous avons rapportées dans le but de connaître la part qui revient aux ions et celle qui appartient à l'hydratation dans la genèse de ces phénomènes.

54. *Mélanoflocculation de Henry.* La réaction de Henry est employée depuis 1927 dans le diagnostic du paludisme. Schématiquement, elle consiste à ajouter au sérum convenablement dilué, une certaine proportion de mélanine formolée,

On constate dans certaines conditions que le sérum paludéen floccule pour des doses de mélanine beaucoup plus faibles que le sérum normal.

Le mécanisme de cette réaction, bien étudié par Trenz, est intéressant à rapporter, à la suite de nos expériences sur la stabilité du sérum. On sait que dans cette réaction, il faut distinguer une floculation en présence de sels et de mélanine (1), et une « surfloculation » produite par l'eau et les sels peu ionisés (118), ce qui est également admis par V. Chorine (22). Par ailleurs, Trenz a montré que la fixation de la mélanine formolée sur les protéines ne se produit plus en l'absence de lipoïdes. Henry avait primitivement supposé que la réaction était due à des anticorps contre l'hémozoïne qui peut résulter de l'action de l'hématozoaire sur les globules, et il admit une analogie entre ce pigment et la mélanine, d'où l'emploi de ce réactif. En réalité, l'hémozoïne ne se comporte pas comme un antigène complet, et donne des réactions beaucoup moins intenses que la mélanine. Actuellement, il est démontré que cette réaction met en jeu les différences de stabilité de certaines fractions protéiques du sérum paludéen, et toute la discussion porte sur la signification qu'il faut attribuer respectivement à la « floculation et à la surfloculation ».

Dans ses premières publications, Trenz a admis qu'il n'y avait qu'une différence de degré entre ces deux phénomènes qui, généralement apparaissent successivement à mesure que croît la gravité de la maladie, ce qui est aussi l'avis de quelques autres auteurs. Mais ultérieurement Trenz a prouvé que ces deux phénomènes sont probablement différents, les sels agissant différemment sur chacun d'eux ; et des études chimiques lui ont montré que la mélanine ne se fixe que sur les euglobulines en solution instable, celles-ci étant qualitativement différentes dans le sérum normal et paludéen. Enfin il a été démontré qu'une fraction seule des euglobulines participe à la mélanofloculation, l'autre intervenant dans la surfloculation.

Il serait très intéressant d'étudier le sérum paludéen aux différents points de vue développés précédemment. Il est possible en effet que d'autres fractions protéiques que les euglobulines voient leurs caractères changer par la présence de l'hématozoaire. Déjà R.-O. Prudhomme (104) a montré que le sérum paludéen a une stabilité globale diminuée, et qu'il floccule plus facilement que le sérum normal en présence d'eau distillée. Les perturbations de l'équilibre sérique peuvent aussi être appréciées avant toute floculation visible par la variation du pouvoir de fixation de substances inertes colorées, telles que le carmin. Ceci est d'ailleurs à rapprocher des expériences montrant que la fixation des colorants par les constituants du sérum sanguin est conditionné par leur état physique, les protéines coagulées se colorant indifféremment par les colorants vitaux et autres, les premiers réagissant seuls dans le sérum normal. Or, dans la réaction

(1) Le présent ouvrage était déjà rédigé lorsque Trenz nous a communiqué de récentes publications (dont nous le remercions) dans lesquelles il signale que parfois NaCl peut augmenter ou diminuer l'intensité de la réaction. Il faut rapprocher ce fait de l'action de ce sels sur la réfraction du sérum pathologique, signalée page 74, qui peut aussi varier dans les deux sens sous son influence.

de Henry la mélanine peut être remplacée par le carmin. Enfin cette réaction n'acquiert toute sa valeur que si les résultats sont appréciés au photomètre, ce qui donne souvent des valeurs assez différentes de celles de la lecture macroscopique. Il y a là un terrain de recherches encore inexploré qu'il nous a semblé utile de signaler.

55. *Réaction de floculation de Vernes.* — Vernes et ses collaborateurs ont étudié (145-146-147) tout un groupe de réactions de précipitations dans le sérum, qui paraissent également mettre en jeu sa stabilité. En principe, ces réactions consistent à mesurer par néphélémétrie, l'importance de la perturbation produite dans le sérum par adjonction de doses croissantes de divers réactifs tels que le sels de métaux lourds et des corps organiques à fonctions polyphénols. Dans des conditions données de température et de dilution, ces réactions présentent des variations importantes dans quelques cas pathologiques.

Le trouble sérique envisagé se traduit par une variation dans la quantité de lumière diffusée par le sérum. Il ne semble pas que l'on puisse actuellement interpréter complètement ces réactions basées sur un tel critérium car, outre que les origines et les causes de variations de la lumière diffusée sont nombreuses et compliquées, comme on peut s'en rendre compte à la lecture des mémoires spéciaux sur la transmissions de la lumière dans les milieux troubles 106, dans le cas du sérum, Lecomte du Noüy a pensé à la suite des travaux de Boutaric 17 que ce phénomène pouvait être lié à la diffusion moléculaire 92. Dans cette hypothèse, la lumière diffusée, bien que liée à la stabilité des protéines sériques, n'aurait plus que des rapports lointains avec le processus de floculation proprement dit, qui peut être brusque sans que pour cela la lumière diffusée cesse de varier d'une façon continue sous l'influence d'un réactif donné.

D'autre part la floculation dans les conditions des expériences de Vernes peut être influencée par des facteurs très nombreux : lipoides, mélanges de protéines, électrolytes, formation de complexes de solubilité différente dans le cas des métaux lourds. Il y aurait lieu d'étudier l'influence de tous ces facteurs à la lueur des faits que nous avons mis en évidence, avant de tenter une interprétation complète de ces réactions, puisque tous ces facteurs semblent bien se rattacher en définitive, à l'hydratation du sérum et en générale aux conditions de sa stabilité.

56. *Méthode interférométrique de Hirsch.* — Le principe de cette méthode employée en clinique pour le diagnostic de certaines maladies, des troubles endocriniens et le cancer en particulier, repose sur l'existence et la spécificité des ferments dits de « défense », dont les travaux de Abderhalden ont conduit à supposer l'intervention.

Le principe de cette méthode étudiée dans le livre de Durupt 36 consiste à mettre le sérum suspect en présence d'extrait d'organes opzims dont le mode de préparation a été précisé. On suppose ensuite que, si le sérum en expérience renferme un ferment spécifique du produit mis en présence, il dégradera chimiquement celui-ci : la concentration totale et l'indice de réfraction du liquide

doivent subir une augmentation que l'on se propose de mesurer au moyen de l'interféromètre (spécialement de l'appareil construit par Zeiss dans ce but).

Sans entrer dans le fond de la question au point de vue clinique, il est possible de formuler quelques critiques assez graves. La méthode suppose que les opzims sont insolubles dans le sérum. Cependant leur mode de préparation permet tout au plus de supposer qu'ils sont insolubles dans l'eau et les solutions de NaCl, ce qui est loin d'être la même chose : on connaît en effet de nombreuses substances, le cholestérol en particulier, rigoureusement insoluble dans l'eau et se dissolvant parfaitement dans le sérum sanguin.

On admet ensuite que la dégradation, si elle existe, doit augmenter l'indice de réfraction du sérum. En réalité il n'est nullement prouvé qu'il doit en être ainsi. Nous avons en effet rencontré précédemment des cas où l'addition d'une substance étrangère au sérum produisait une diminution de son indice de réfraction, notamment lorsqu'il se produit une réaction chimique entre ces corps et les constituants du sérum. De plus, page , nous avons cité des exemples de modifications observées dans la composition protéique sans variation corrélative de l'indice de réfraction. La dégradation des albumines ne produit donc pas forcément une augmentation de l'indice de réfraction : tout dépend de la nature de cette albumine, et à ce point de vue, nous sommes dans l'ignorance la plus complète.

Les différents auteurs qui se sont occupés de cette question ont bien tenté de prouver la réalité d'une action fermentaire dans le sérum en présence des opzims solides. Mais l'interprétation de leurs résultats expérimentaux doit être révisée, car jamais ces résultats n'ont été exprimés en indice de réfraction, mais simplement en nombre de divisions de compensateur des instruments. Dans un article publié à la *Revue de Pathologie comparée* (10 novembre 1936) nous avons déjà critiqué cette façon de faire. Rappelons simplement les points suivants :

a) Il n'a jamais été démontré que le résultat de la réaction soit lié d'une façon simple à la concentration en sérum, par conséquent ce que les auteurs appellent la « correction d'après la valeur interférométrique du sérum » ne repose sur rien et ne peut être appliquée de la façon indiquée.

b) Il n'a jamais été démontré que « l'action non spécifique » des opzims sur le sérum ne soit pas influencée par la température.

c) Il est impossible de déduire des résultats bruts de la lecture, comme il a été préconisé, une correction mesurée, pour un opzim donné une fois pour toutes sur un sérum quelconque ou sur une solution colloïdale artificielle, ou même sur le sérum étudié, car dans ce dernier cas on ne connaît pas la signification de l'opération tentée dans ce but. Corrélativement il n'est pas démontré que la différence entre les résultats obtenus à 0° et à 37° représente exclusivement l'action fermentaire.

d) En plus de cela il a été prouvé dans une communication antérieure (69) que l'indice du sérum varie moins vite que sa concentration globale, ce qui empêche d'employer une simple règle de trois pour effectuer la correction en question.

Il est donc fort probable que la réaction de Hirsch est conditionnée pour la plus grande part, par des phénomènes physiques se passant entre le sérum et le réactif solide. A priori, il n'est pas impossible, d'après ce que nous savons maintenant sur le sérum sanguin, que de tels phénomènes puissent présenter une certaine spécificité en relation à la fois avec la nature du réactif et la structure intime du sérum examiné, donc aussi avec son origine.

Il est aussi possible, à partir des considérations exposées plus haut, d'expliquer l'action déshydratante des opzims sur le sérum, mise en évidence par Durupt. Cette action doit faire varier l'équilibre hydrique des protéines, ce qui doit être d'autant plus difficile que celles-ci sont déjà moins hydratées, c'est-à-dire que le sérum est plus concentré. Or, nous avons constaté plus haut que les variations de la stabilité du sérum s'accompagnent de perturbations importantes de son indice de réfraction. Il y a peut-être là l'explication du fait que les opzims produisent une action d'autant plus forte que la « valeur interférométrique » du sérum est plus forte (c'est-à-dire que son indice est plus élevé : les sérums concentrés subissant des variations relativement plus importantes de leur indice, toutes choses égales d'ailleurs).

En d'autres termes, ce serait ce que l'on a appelé « l'action non spécifique » des opzims qui renfermerait les phénomènes les plus intéressants et les plus significatifs au point de vue clinique, parce qu'en relation à la fois avec la spécificité du sérum et celle du réactif. Une conséquence inattendue de cette assertion apparaît immédiatement : le schéma de Zimmer Lendel et Fellow retrouve tout son intérêt pratique, bien que son interprétation véritable demande à être complètement révisée. Ceci expliquerai pourquoi ce schéma très employé dans les premiers âges du procédé, a donné beaucoup de bons résultats en accord avec la clinique, malgré les erreurs qui sont probablement à la base de la méthode.

Remarquons encore que, s'il se forme des peptones par digestion des opzims, la nécessaire spoliation d'eau du sérum doit être, en vertu des lois connues de la chimie, d'autant plus difficile que le sérum est plus concentré. Cette spoliation d'eau a en effet pour résultats de concentrer le sérum, ce qui diminue son hydratation, rendant ensuite plus difficile une nouvelle déshydratation. Or, ce résultat théorique est juste l'inverse de ce que l'on observe dans la pratique : ce sont les sérums les plus concentrés qui subissent la plus forte modification de leur indice. Cette constatation montre bien l'influence prépondérante des processus physique dans tous ces phénomènes, et l'importance qu'il faut leur attribuer en biologie, où ils doivent pouvoir jouer un rôle de premier plan.

CONCLUSIONS

Dans le but d'étudier les causes de variation de l'indice de réfraction du sérum sanguin, et d'établir les relations qui peuvent exister entre ces phénomènes et la structure intime de ce liquide, nous avons été conduits à construire un réfractomètre interférentiel spécialement adapté aux recherches biologiques.

I. Cet appareil présente des perfectionnements importants qui sont principalement : amovibilité de la source lumineuse, grand écartement des rayons, collimateur réglable, cuves à liquides de conception nouvelle évitant tout mélange, d'épaisseur variable, de remplissage et de nettoyage instantanés, ce qui permet de faire rapidement un grand nombre de mesures, compensateur à lames à faces parallèles réglables, permettant de simplifier l'étalonnage et les corrections qui se ramènent à l'application d'une formule très simple et différents dispositifs éliminant le Sprung et les erreurs de diffraction.

II. Grâce à ces perfectionnements il nous a été possible d'effectuer, sans erreurs due à des variations de température, un grand nombre de mesures d'indice de réfraction à la 6^e ou 7^e décimale, dans des conditions très variées, sur de très petites quantités de produits.

III. L'emploi de cet instrument, conjugué à la mise au point d'une méthode de mesure des volumes des liquides de précision appropriée, a permis d'acquérir les résultats suivants.

IV. Les variations normales de l'indice du sérum humain ayant été trouvées comprises entre 1,349360 et 1,351320, avec une moyenne de 1,350199, nous avons constaté que :

V. Sauf au cours de quelques rares maladies dans lesquelles se produit une chute d'indice constante, la réfraction est normale dans de nombreux cas pathologiques, mais au cours de la dilution avec de l'eau distillée, les sérums pathologiques se différencient nettement du sérum normal.

VI. L'influence de la concentration sur l'indice du sérum n'est pas continue : l'indice varie d'une façon linéaire pour des concentrations comprises entre 20 et 100% (homme, cheval, lapin) mais au-dessous de 20% environ, la droite s'incurve vers l'axe des abscisses. Le fait que le graphique représentatif ne correspond pas à la relation classique, et qu'il présente un accident pour des concentrations où l'on devrait s'attendre à trouver une droite, semble indiquer l'existence de modifications physico-chimiques provoquées dans le sérum par l'eau distillée. La concentration de 20% correspond d'ailleurs à une zone d'instabilité déjà vue par d'autres méthodes.

VII. Dans la partie droite du graphique les divers sérums présentent des pentes assez différentes reflétant leur individualité. Des sérums qui purs, ont le même indice, peuvent donc posséder des structures différentes mises en évi-

dence par leur comportement en présence d'eau distillée, la variabilité semblant beaucoup plus grande pour les sérums pathologiques.

VIII. Le comportement de ces sérums vis-à-vis de substances étrangères quelconques doit aussi différer. Appliquant une relation approchée très simple, valable pour les gaz parfaits, et souvent suffisante en solution, la comparaison de la variation d'indice du sérum en présence d'une trace d'eau pour provoquer le moins de perturbation possible, et en présence du même volume d'une solution sucrée par exemple, donne les résultats suivants :

IX. Les divers sucres ont des actions très différentes, certains tel le galactose, faisant baisser l'indice du mélange.

X. En présence de glucose, les différences observées sont assez voisines les unes des autres dans les sérums humains normaux.

XI. Les chiffres trouvés dans les mêmes conditions sont au contraire beaucoup plus forts et très variables dans les sérums pathologiques.

XII. Pour des sérums chauffés, les chiffres sont également très élevés.

XIII. L'action quantitative d'un sucre sur un sérum n'est pas influencée sensiblement par la concentration en sérum.

XIV. Dans tous les cas la variation d'indice produite est très supérieure à celle que l'on pourrait calculer s'il s'agissait d'un simple mélange, ce qui pourrait s'expliquer de plusieurs façons qui ont été envisagées :

XV. L'adsorption ne semble pas intervenir efficacement.

XVI. En ce qui concerne l'hypothèse d'une répartition homogène des substances ajoutées dans le liquide intermicellaire du sérum considéré à l'état colloïdal, on a établi les points suivants :

XVII. Un calcul théorique montre qu'il est possible à partir de mesures réfractométriques, d'évaluer l'importance relative de la phase dispersée par rapport au volume total d'un sol.

XVIII. Ce calcul est inapplicable aux métaux colloïdaux à cause de la trop grande raréfaction.

XIX. Son application à l'examen du lait émulsion donne des résultats cohérents qui justifient son intervention dans l'étude du sérum.

XX. Dans le sérum, les perturbations d'indice apportées par les différents sucres ne correspondent jamais à rien de cohérent ni de constant.

XXI. Cette constatation implique l'inexactitude de l'hypothèse de départ (structure colloïdale du sérum, ce qui est conforme aux travaux anglais qui, par des méthodes basées sur des principes analogues ou différents, aboutissent à rejeter la notion « d'eau liée ».

Des études identiques faites en présence de NaCl et KCl montrent que :

XXII. NaCl diminue toujours l'indice du sérum normal.

XXIII. KCl a une action très faible positive ou négative.

XXIV. Ces expériences ne permettent pas non plus de mettre en évidence « l'espace non solvant » des auteurs français.

XXV. Dans les sérums pathologiques ces deux sels produisent des actions très différentes en relation avec l'allure du dn du sérum sous l'influence de la dilution avec l'eau.

XXVI. L'addition de KCl, bien que presque sans action à elle seule sur l'indice du sérum, provoque cependant une modification de sa structure telle que l'action d'un sucre se trouve ensuite très différente de celle considérée précédemment.

L'interprétation de ces résultats, qui semblent bien mettre en cause la plus ou moins grande stabilité des constituants du sérum, exige des connaissances supplémentaires sur les conditions de la stabilité de ce liquide.

Une étude générale des travaux effectués à ce jour montre que la quantité d'ions et l'hydratation sont les deux principaux facteurs qui régissent la stabilité. Mais il reste à préciser les relations quantitatives qui unissent ces facteurs au moment du début du changement d'état qui traduit la perte de la stabilité. Dans cette voie nous avons acquit les résultats suivants :

XXVII. Pour le sérum, l'ovalbumine, la gélatine, la gélose, le glycogène, la concentration d'alcool juste floculente n'est pas liée à la concentration en colloïde par une relation simple, mais on a entre les concentrations en équilibre au début de la floculation : $C^{\circ} \text{ colloïde} / C^{\circ} \text{ alcool} = K \cdot C^{\circ} \text{ colloïde}$, ce qui enlève toute valeur à la notion classique de « nombre d'alcool ».

XXVIII. Pour le sérum, l'ovalbumine (et la gélose en présence de base) l'augmentation de l'acidité se traduit par une diminution de l'hydratation définie par le rapport précédent.

XXIX. Pour le sérum et l'ovalbumine, la quantité d'acide amenant la floculation augmente parallèlement à la concentration en colloïde. Le rapport $C^{\circ} \text{ colloïde} / C^{\circ} \text{ acide}$ présente un maximum qui, pour le sérum, est situé au voisinage de la C° de 20%.

XXX. La considération du rapport $C^{\circ} \text{ alcool} / C^{\circ} \text{ acide}$ réalisé au début de la floculation permet de préciser les relations existant entre hydratation et charge ionique. L'expérience montre que ce rapport est indépendant de la concentration en colloïde.

XXXI. Tous ces résultats se retrouvent par le calcul d'application rigoureux de la loi de dilution en fonction des activités, avec la seule hypothèse que les corps étudiés sont des électrolytes faibles et que par conséquent, en solution étendue, leur degré de dissociation varie peu et en sens inverse de leur concentration.

Cet accord entre le calcul et les résultats expérimentaux, bien que contraire aux raisonnements classiques mais incomplets, engage à étudier sous le même jour les phénomènes de peptisation.

XXXII. De cette étude il résulte que la structure physique et les propriétés des floculats sériques semblent être très peu influencés par les conditions dans

lesquels ils prennent naissance, ni par la nature des réactifs mis en présence dans les conditions de nos expériences : ces précipités paraissent posséder une véritable individualité chimique et physique difficile à concilier avec une structure colloïdale.

XXXIII. La quantité d'acide produisant la peptisation augmente parallèlement à la concentration en protéine (pour le sérum et la gélatine).

XXXIV. La différence entre la C^0 en acide flocculant et la C^0 en acide peptisant augmente avec la concentration en protéine présente à la fin de la peptisation.

XXXV. Différents modes opératoires on conduits à admettre une augmentation de la concentration en alcool flocculant parallèle à la concentration en colloïde juste peptisé par un acide, l'hydratation variant en sens inverse.

XXXVI. L'acidité a pour effet d'augmenter l'hydratation du sérum peptisé.

XXXVII. Il semble bien que cette nouvelle série de résultats soit justiciable des mêmes hypothèses, puisque pour la peptisation les facteurs considérés agissent exactement en sens inverse de ce qui a lieu pour le début de la flocculation. En d'autres termes, la peptisation semble aussi être une réaction se passant en présence d'électrolytes faibles et dont la marche se régie par la loi d'action de masse.

XXXVIII. Reprenant l'étude des variations de l'indice de réfraction du sérum au cours des différentes phases de la flocculation il a été alors possible d'interpréter les points suivants :

XXXIX. Au moment de la flocculation par un acide, il se produit une chute brusque de l'indice.

XXXX. Après peptisation du sérum, le liquide possède un indice à peu près identique à celui qu'il avait au début de la flocculation, à la très petite différence près due à la nouvelle adjonction d'acide. Ce fait confirme la constance remarquable déjà signalée dans la structure et les propriétés des substances qui précipitent en présence d'acide, et qui semblent ainsi posséder une véritable individualité physico-chimique.

XXXI. Pour les faibles teneurs en sérum il se produit, pour une certaine concentration ionique dans le liquide peptisé, une autre chute d'indice bien que le liquide reste à ce moment parfaitement limpide. Cet accident a lieu pour une concentration en acide pour laquelle un minimum a été observé dans les variations de l'hydratation du sérum peptisé, sous la même influence. Il doit donc se produire à ce moment, une modification structurale de l'un des constituants du sérum qui avait échappé jusqu'à maintenant avec les autres procédés d'investigation.

XXXII. La dilution avec de l'eau distillée d'un sérum préalablement acidifié ou auquel on a ajouté une base, permet de constater que l'accident survenant au voisinage de la concentration de 20%, dans la variation de l'indice, se déplace vers les fortes concentrations en sérum en présence d'acide, et inversement en présence de base.

XXXXIII. La variation de l'indice d'un sérum sous l'influence d'un sucre tel que le glucose est, pour une même dose de ce corps, presque identique avant floculation et après peptisation, ce qui confirme encore la constance de la structure et des propriétés au cours du phénomène.

XXXXIV. L'addition d'un déshydratant au sérum avant floculation et après peptisation ne donne pas des résultats conformes à ce que l'on serait en droit d'attendre s'il existait un « espace non solvant », conformément à nos premières expériences. Il se produit en réalité une diminution considérable de l'effet dû à une adjonction ultérieure d'un sucre, et ici encore le résultat est sensiblement analogue avant floculation et après peptisation.

XXXXV. Il est alors possible d'établir des relations précises entre les variations de l'indice et les variations de la stabilité du sérum. L'accident rencontre un voisinage de la concentration de 20% en sérum dans les variations de son indice en fonction de sa dilution par l'eau correspond à une stabilisation, parfois accompagnée de floculation, d'un de ses fractions. L'acidification diminuant l'hydratation donc la stabilité déplace cet accident vers les fortes concentrations en sérum : logiquement ce constituant deshydraté doit en effet floculer plus tôt.

De même dans le sérum peptisé il se produit, pour une concentration bien définie, un minimum de l'hydratation et de l'indice en fonction de l'acidité, ces deux phénomènes semblant ainsi dus à une cause unique : une perturbation dans la structure de l'un des constituants du sérum.

XXXXVI. On a montré que les diminutions de la stabilité du sérum se traduisent par une chute de son indice. Inversement, le glucose et quelques sucres produisent une augmentation de l'indice en accord avec leur action bien connue sur la stabilité. Enfin les mesures sur les sérums chauffés et sur les sérums salés par KCl et $NaCl$, ou alcoolisés, montrent que l'action de ces produits se ramène à une deshydratation, diminuant la stabilité, l'action ultérieure d'un stabilisant se trouvant diminuée d'autant.

Le fait que tous ces phénomènes se raccordent entre eux d'une façon tout à fait cohérente, fructueuse en résultats puisqu'elle nous a permis de fournir une explication riche en possibilité et univoque, pour différentes réactions employées en médecine (réaction de Kopaczewski, de Gori, de Botelho, de Wigand, de Henry, de Vernes, de Hirsch) doit engager à admettre la véracité des quelques hypothèses formulées en cours de route. Ces hypothèses se ramènent en définitive à ceci :

Le sérum sanguin se comporte comme un mélange d'ampholytes m léculairement dispersés, constituant des entités physico-chimiques se conservant au cours des phénomènes auxquels ils peuvent prendre part, dont la stabilité, placée sous la dépendance de l'ionisation et de l'hydratation, est régie par la loi d'action de masse. Les caractéristiques et les variations de cette stabilité peuvent en outre, être étudiées d'une manière très fine et qui s'avère fructueuse, par des mesures de réfractométrie interférentielle rendues faciles et rapides à l'aide de l'appareil mis au point pour cet usage.

BIBLIOGRAPHIE

1. ADAIR. — Skand arch. f. physiol., XLIX, p. 76, 1926.
2. AMBARD (L.) et DEVILLER (Ch.). — C. R. Soc. de Biol., CXIX, p. 575, 1935.
3. AMY (L.). — Jl. de pharm. et chim., 16 juillet 1930.
4. ANSON (L.) et MIRSKI (E.). — Jl. of gen. phys., XV, p. 341, 1932.
5. ANTOGNETTI (L.). — Patol., XXVI, p. 802, 1934.
6. BANCELIN. — C. R. Ac. des Sc., CLII, p. 1382, 1911.
7. BAEKER (H.-A.). — Jl. biol.-chem., CIV, p. 667, 1934.
8. BARY (P.). — Les colloïdes métalliques, Paris, 1920.
9. BIGWOOD (E.-J.). — La Médecine, août, 1933, p. 1.
10. BIGWOOD (E.-J.). — C. R. Soc. de Biol., CII, p. 322, 1929.
11. BIGWOOD (E.-J.). — C. R. Soc. de Biol., CII, p. 324, 1929.
12. BIGWOOD (E.-J.). — C. R. Soc. de Biol., CII, p. 600, 1929.
13. BIGWOOD (E.-J.). — C. R. Soc. de Biol., CII, p. 45, 1930.
14. BIGWOOD (E.-J.). — C. R. Soc. de Biol., CIII, p. 47, 1930.
15. BODLANDER (V.-G.). — Neues. Jahrb. F. Min. Geol. usuv., II, p. 147, 1893.
16. BOURDEAU (M.). — Thèse de médecine, Paris, 1935.
17. BOUTARIC. — Bull. Soc. de chim. biol., II, p. 389, 1932.
18. BOUTARIC. — Rev. gen. des Sc., p. 633, 1933.
19. BOUTARIC et DOLADHLE. — C. R. Soc. de Biol., CXCV, p. 1385, 1932.
20. BROCC-ROUSSEU. — C. R. Soc. de Biol., XCV, p. 6, 1926.
21. BROCC, ROUSSEL et BÉRAUT. — C. R. Soc. de Biol., XCIX, p. 1463, 1928.
22. BRUNELLI (B.). — Ar. farm. Sper. Sc., LVII, p. 239, 1934.
23. BUNGENBERG DE JONG. — Rev. trav. Chim., XLII, p. 437, 1923.
24. BUNGENBERG et KRUYT. — Koll. beit., I, p. 28, 1928.
25. CAMBIER (P.). — C. R. Soc. de Biol., CII, 944, 1929.
26. CHANOT. — C. R. Soc. de Biol., CII, p. 603, 1929.
27. CHANOT et PONTIUS. — C. R. Soc. de Biol., CXII, p. 883, 1934.
28. CHAUDRON. — Thèse de Sciences, Paris, 1921.
29. CHORINE (V.). — C. R. Soc. de Biol., CXIX, p. 1323, 1935.
30. CZUBALSKI (Fr.). — C. R. Soc. de Biol., CIV, p. 902, 1930.
31. DANJON. — Astronomie.
32. DARMOIS. — Leçons sur la conductibilité des électrolytes. Paris, 1929.
33. DOLADHLE. — C. R. Ac. des Sc., CXCVIII, p. 1189, 1934.
34. DOLADHLE. — C. R. Ac. des Sc., CCI, p. 1439, 1935.
35. DUCLAUX (J.). — Rev. gen. de Coll., p. 251, 1930.
36. DURUPT. — L'interférométrie en clinique. Paris, p. 193.
37. DURUPT et LAGARDE. — Monde Med., 1^{er} av., 1932.
38. DURUPT et SCHLOESINGER. — C. R. Soc. de Biol., CXII, p. 283, 1933.
39. EINSTEIN. — Ann. de phys., XIX, p. 289, 1906.
40. EVERSMAAN (Th.). — Zeits. F. Inst., LII, p. 525, 1932.
41. FABRY (Ch.). — La lumière monochromatique. Inst. Opt., Paris, 1930.
42. FARLANE (Mc.). — Bioch. Jl., XXIX, p. 407, 1935.
43. FARLANE (Mc.). — Bioch. Jl., XXIX, p. 660, 1935.
44. FILITTI (S.). — C. R. Ac. des Sc. CXCV, p. 1731, 1931.
45. FISCHBERG. — Jl. of biol. chem., LXXXI, p. 205, 1929.
46. FREUNDLICH (H.). — Zeitsch. f. phys. chem. XLIV, p. 143, 1913.
47. GIRARD (P.) et MARINESCO (N.). — C. R. Soc. de Biol., CII, p. 302, 1929.
48. GORI (P.). — Sper., LXXXIX, p. 392, 1935.
49. GUILLOT. — Jl. Chim. Phys., XXVIII, p. 28, 1931.
50. GORTNER. — Trans. farad. Soc., XXVI, p. 678, 1930.
51. GOTTING. — Nach. Math. phys. Kalss., p. 267, 1893.
52. GOUY. — Jl. de phys., IX, p. 457, 1910.
53. GROENWALL (A.). — Arch. f. exp. Pathol. u pharm., CLXXIV, p. 544, 1934.
54. GUILLAUMIN (Ch.-O.). — Bull. Soc. chim. biol., XI, p. 387, 1929.
55. GUILLAUMIN (Ch.-O.). — Presse méd., 10 janv. 1931.

57. GUYE (Ch.-E.). — L'Evolution physico-chimique. Chiron, Paris, 1922.
58. HAISSINSKI. — Les radio-colloïdes Hermann, Paris, 1934.
59. HAND (D.-B.). — Jl. biol. chem. CVIII, p. 703, 1935.
60. HARDY (W.-B.). — Proc. Roy. Soc. Lond., LXVI, p. 110, 1900.
61. HELMHOLTZ. — Ges. Abhandl., I, p. 925, 1912.
62. HILL. — Proc. Roy. Soc. Lond., CXXVII, p. 9, 1930.
63. HILL. — Adventures in biophysics. Cambridge 1931.
64. HOBER (R.). — Physikalische chemie der Zellen und des Gewebe, Leipzig, 1911, p. 324.
65. ITCHIKAWA. — Neoplasme, VI, p. 326, 1928.
66. JAMIN. — Ann. chim. et phys. 3^e série, LIII, 1858.
67. JONNARD (R.). — C. R. Soc. de Biol., CXXII, p. 396, 1936.
68. JONNARD (R.). — C. R. Soc. de Biol., CXXII, p. CXXII, p. 1305, 1936.
69. JONNARD (R.). — C. R. Ac. des Sc., CCCIII, p. 124, 1936.
70. JONNARD (R.) et ZUCKERKANDL, C. R. Soc. de Biol., CXXII, p. 1935, 1936.
71. JONNARD (R.). — C. R. Soc. de Biol., CXXI p. 8111, 1936.
72. JONNARD (R.). — C. R. Soc. de biol., CXXII, p. 48, 1936.
73. KARWAT (Ernst). — Zeits. f. Inst. LII, pp. 12 et 70, 1933.
74. KOPACZEWSKI. — Introduction à l'étude des colloïdes. Paris, 1931.
75. KOPACZEWSKI. — C. R. Ac. des Sc. CXCVIII, p. 1271, 1934.
76. KOPACZEWSKI. — C. R. Ac. des Sc., CXCVIII, p. 2284, 1934.
77. KOPACZEWSKI. — C. R. Ac. des Sc., CC, p. 974, 1935.
78. KOPACZEWSKI. — Bull. Soc. pharmacol., XLII, p. 135, 1935.
79. KOPACZEWSKI. — C. R. Ac. des Sc., CXCVIII, p. 1947, 1934.
80. KOPACZEWSKI. — C. R. Soc. de Biol., CXVI, p. 869, 1934.
81. KOPACZEWSKI. — Jl. phys. et path. gen. XXXIII, p. 7, 1935.
82. KRUYT. — Les colloïdes. Alcan. Paris, 1933.
83. KRUYT et TENDELOO. — Koll. beit., I, p. 28, 1928.
84. KYLIN (Eskil). — Arch. f. exp. path. u pharm., CLXXV, p. 711, 1934.
85. KYLIN (Eskil) et KRISTENSON. — Acta med. Scand., LXXXIII, p. 273, 1934.
86. LANDT. — Zeits. f. Electroch., XXXVIII, p. 630, 1932.
87. LAZAREFF. — Théorie ionique de l'excitation des tissus vivants. Blanchard, Paris, 1928.
88. LEAN (Mc.) et HASTINGS (A.-B.). — Proc. soc. exp. biol., XXXI, p. 529, 1934.
89. LECOMTE DU NOUY. — Cong. Assoc. franc. Av. des Sc., Grenoble, 1925.
90. LECOMTE DU NOUY. — Ann. Inst. Pasteur. Paris. XLII, p. 742, 1928.
91. LECOMTE DU NOUY. — Soc. franc. de Sérol., 8 nov. 1934.
92. LECOMTE DU NOUY. — Ann. Inst. prophyl., 2^e trim. 1933.
93. LECOMTE DU NOUY et COPPO. — C. R. Soc. de Biol., CXCI, p. 1307, 1935.
94. LEB (J.). — Proteins and the théorie of colloidal behavior. New-York, 1922.
95. LOISELEUR et MOREL. — C. R. Soc. de Biol., XCVII, p. 1271, 1927.
96. LOISELEUR et MOREL. — C. R. Soc. de Biol., CI, p. 710, 1928.
97. LOUGHLIN. — Bioch. Jl., XXVI, p. 1557, 1932.
98. LOWRY et ALSOFF. — Proc. Roy. Sc. Lond., CXXVI, p. 105, 1929.
99. LUDLUM (W.) et NUGENT (L.). — Proc. Soc. exp. biol., XXXI, p. 220, 1933.
100. LUMIÈRE. — Colloïdes et micelloïdes Maloine. Paris, 1933.
101. LUMIÈRE et MEYER (P.). — C. R. Soc. de Biol., CXX, p. 998, 1935.
102. MALFITANO et CATOIRE. — Act. Sc. Hermann. Patris., 1934.
103. MARCZEWSKI. — C. R. Ac. des Sc., CCHII, p. 510, 1936.
104. MAYES. — Quart. Jl. of. med., XIX, p. 273, 1936.
105. MARINESCO. — C. R. Ac. des Sc., CLXXXVII, p. 718, 1934.
106. MONNIER. — Efficacité des projecteurs d'automobile. Souvion. Paris, 1936.
107. MUTZENBECHER (von). — Biochem. zeitech., CCLXVI, pp. 226-250-269, 1933.
108. NEWTON et GORTNER. — Bot. gaz., LXXIV, p. 442, 1922.
109. NICLOUX (M.). — C. R. Ac. des Sc., CXCVIII, p. 983, 1934.
110. NICLOUX (M.). — Bull. soc. chim. giol., XVI, p. 822, 1934.
111. NICLOUX (M.). — C. R. Soc. de Biol., CXV, 1280, 1934.
112. NICLOUX (M.). — C. R. Soc. de Biol., CXV, p. 1284, 1934.
113. NICLOUX (M.). — C. R. Soc. de Biol., CXV, p. 1287, 1934.
114. OLLIVIER. — Traité de Physique. Paris, 1928.
115. OSTWALD (Wo.). — Bodenkörperregel Koll. z., LXXIV, p. 163, 1927.

116. OVERTON. — Pflug. arch., XCII, p. 115, 1902.
 117. PAULI et SAMEC. — Kolloid. der. Eiweisk. Dresde, 1920, p. 35.
 118. PERRIN (J.). — Les atomes. Paris, 1921.
 119. PIETTRE (M.). — C. R. Ac. des Sc., CC, p. 364, 1935.
 120. PIETTRE (M.). — C. R. Ac. des Sc., CLXXXVIII, p. 463, 1929.
 121. POLONOWSKI, GERNEZ et DRIESSENS. — C. R. Soc. de Biol., CXXI, p. 79, 1932.
 122. PONTIUS (P.). — C. R. Ac. des Sc., CXCVI, p. 1248, 1933.
 123. PRIDAUX et HOWITT-TRANS. — Farad. Soc., XXVIII, p. 79, 1932.
 124. PRUDHOMME (R.-O.). — C. R. Soc. de Biol., CXX, p. 944, 1935.
 125. RAYLEIGH (Ld.). — Proc. Roy. Soc. Lond., LIX, p. 201, 1896.
 126. RICHARDS et HARRIS. — J. am. chem. soc., LIV, p. 3799, 1932.
 127. ROCHE (J.) et BRACO (J.). — C. R. Ac. des Sc., CXCIX, p. 98, 1934.
 128. ROFFO. — Bull. Inst. med. exp. Buenos-Aires, p. 68, 1925.
 129. SCAFRIDI (Vittorio). — Riv. pat. per., III, p. 265, 1928.
 130. SCHURMANN. — Z. f. Electroch., XXXVIII, p. 627, 1932.
 131. SIEBENMANN (C.). — Biochem. J. XXVII, p. 1745, 1933.
 132. SLAWINSKI (A.). — Bull. soc. chim. biol., XVI, p. 96, 1934.
 133. STERN. — Z. f. elektroch., XXX, p. 508, 1924.
 134. SWEDBERG et SJOGREN. — J. am. chem. soc., L, p. 3318, 1928.
 135. TAPERNOUS (A.). — Pagnon et VUILLAUME. — C. R. Soc. de Biol., CXV, pp. 1126 et 1698, 1934.
 136. TENDELOO. — Koll. Z. XLI, p. 290, 1927.
 137. THOMAS (J.). — Tub. et Canc. 15 fev. 1927, p. 31.
 138. THOMPSON (W.-R.). — J. of. gen. phys., XVI, 1932.
 139. TALMOND et POKHIL. — J. chim. phys. russe, III, p. 255, 1932.
 140. TRENZ. — C. R. Soc. de Biol., CXX, p. 1268, 1935.
 141. TRENZ. — C. R. Soc. de Biol., CXIX, p. 966, 1935.
 142. VEIL. — D. Arch. Klin. med., CXIII, p. 226, 1918.
 143. VIALE (G.). — Arch. fisiol., II, p. 547, 1918.
 144. VERNEY. — J. of. physiol., LXI, p. 319, 1926.
 145. VERNES, BRICQ, GAGER, CHAUCHARD et BASOCHE. — Arch. Inst. prophyl., I, p. 43, 1929.
 146. VERNES, BRICQ, GAGER, CHAUCHARD et BASOCHE, Arch. Inst. prophyl., II, 211, 1930.
 147. VERNES, BRICQ, GAGER, CHAUCHARD et BASOCHE. — Arch. Inst. prophyl., IV, p. 399, 1932.
 148. VIGNERON. — Manuel des calculs de laboratoire, Paris, 19.
 149. VIOLLE (P.-L.). — Ann. Inst. Hydrol., 14— p. 1111, 1925.
 150. ZUCKERKANDL (F.). — C. R. Soc. de Biol., CXXII, p. 1316, 1936.
 151. ZUCKERKANDL (F.). — C. R. Soc. de Biol., CXXII, p. 1318, 1936.
-

TABLE DES MATIÈRES

PREMIÈRE PARTIE

LA TECHNIQUE INTERFÉROMÉTRIQUE

CHAPITRE I. — <i>Etude de l'appareil.</i>	7
1. Rappel des faits généraux.	7
2. Description de l'appareil.	9
3. Lunette de visée.	11
4. Utilité du micromètre.	11
5. Lectures.	12
6. Cuves à liquides.	13
7. Epaisseur de la couche liquide.	14
8. Compensateur.	14
9. Manœuvre du compensateur.	15
10. Etalonnage du compensateur.	15
11. Application pratique.	17
12. Importance de la correction.	18
13. Correction de position des cuves.	18
14. Opportunité de cette correction.	20
15. Phénomène du Sprung.	20
16. Influence de la dispersion sur les mesures.	21
17. Vérification de l'appareil.	21
18. Repérage photo-électrique des franges.	22
19. Correspondance des résultats.	23
20. Processus des mesures.	26
21. L'interféromètre de Jobin et Yvon.	28
CHAPITRE II. — <i>Technique expérimentale.</i>	30
22. Nettoyage des cuves.	30
23. Mesure des volumes.	30
24. Etalonnage des pipettes.	32
25. Précautions d'aseptie.	35

DEUXIÈME PARTIE

RÉFRACTOMÉTRIE DU SÉRUM SANGUIN

CHAPITRE I. — <i>Etude réfractométrique du sérum pur.</i>	36
26. Chiffres normaux.	36
27. Indice de réfraction des sérums pathologiques.	37
28. Influence de la concentration en sérum.	39
CHAPITRE II. — <i>Réfraction et structure physico-chimique.</i>	49
29. Indice des mélanges gazeux et liquides.	49
30. Prévision des réactions chimiques.	52
31. Dilution du sérum en présence d'une substance étrangère. Technique. Présentation des résultats.	53
32. Influence de quelques non-électrolytes.	55
CHAPITRE III. — <i>Interprétation des résultats.</i>	61
33. Répartition homogène dans le liquide intermicellaire généralités. application au sérum. Limite d'applications. Application pratique.	63
34. Grandeur du volume micellaire des métaux colloïdaux.	68
35. Examen réfractométrique des émulsions.	69

36. Rapport de phase dans le sérum normal.	70
37. La notion d'espace solvant.	71
38. Expériences avec des électrolytes.	73
39. Influence d'un sel sur le comportement du glucose.	75

TROISIÈME PARTIE

LA STABILITÉ DES COLLOIDES HYDROPHILES

CHAPITRE I. — <i>Considérations générales.</i>	77
40. Etat actuel de la statique colloïdale.	77
41. Conditions de stabilité des sols hydrophiles.	81
CHAPITRE II. — <i>Etude de la stabilité du sérum et de quelques autres sols.</i>	84
42. Méthodes d'observation.	85
43. Etude de l'hydratation.	86
44. Influence des électrolytes.	93
45. La stabilité des protéines et la loi d'action de basse.	108
CHAPITRE III. — <i>Etude de la peptisation.</i>	114
46. Observations préliminaires.	114
47. Peptisation par un acide.	115
48. Influence de l'hydratation.	118

QUATRIÈME PARTIE

ETUDE RÉFRACTOMÉTRIQUE DE LA FLOCCULATION.	126
--	-----

CINQUIÈME PARTIE

LA STRUCTURE DU SÉRUM SANGUIN

CHAPITRE I. — 49. Considérations générales.	133
CHAPITRE II. — <i>Interprétation de quelques réactions biologiques.</i>	137
50. Réaction de gélification de Kopaczewski.	137
51. Réaction de Gori.	137
52. Réaction de Botelho.	137
53. Réaction de Wigand.	138
54. Mélanofloculation de Henry.	138
55. Réactions de Vernes.	140
56. Méthode interférométrique de Hirsch.	140
CONCLUSIONS GÉNÉRALES.	143
BIBLIOGRAPHIE	148
TABLE DES MATIÈRES.	152

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

LES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES CONSTITUANTS DE LA CELLULE

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le

Le Doyen de la Faculté des Sciences.

CH. MAURAIN

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

